

**Tensidfreie multiple W/O/W-Emulsionen als Drug Delivery Systeme –  
Entwicklung, Herstellung und Charakterisierung**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)  
genehmigte  
D i s s e r t a t i o n

von Johannes Wengst  
aus Bonn

1. Referent:	Professor Dr. Rolf Daniels
2. Referentin:	Professor Dr. Heike Bunjes
eingereicht am:	15.11.2006
mündliche Prüfung (Disputation) am:	19.02.2007

Druckjahr 2007

### *Vorveröffentlichungen der Dissertation*

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

#### Publikationen

Wengst J., Daniels R.: Characterization of interior water loss in W/O/W double emulsions. *Colloids and Surfaces A*. (Eingereicht)

Wengst J., Daniels R.: Tensidfreie multiple Emulsionen als Drug Delivery Systeme – Entwicklung, Herstellung und Charakterisierung. In: *Multiple Emulsionen – Herstellung und Eigenschaften*, Hrsg. Muschiolik, G., Bunjes, H., Behr's Verlag (2007).

#### Tagungsbeiträge

Wengst J., Daniels R.: Influence of a hydrophilic polymer on a polymer stabilized W/O emulsion. *Proceedings International Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Nuremberg, 619-620 (2004).

Wengst J., Daniels R.: Influence of the primary emulsion preparation on the percentage of inner water phase in multiple emulsions. *Proceedings International Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Geneva (2006).



Für Annette, Urte,  
Helga und Klaus



Immer, wenn man die Meinung der Mehrheit teilt,  
ist es Zeit, sich zu besinnen.

Mark Twain





## *Danksagung*

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Rolf Daniels am Institut für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig.

Herrn Prof. Dr. Rolf Daniels

danke ich herzlich für die Möglichkeit, zwischen mehreren Themen das für mich richtige zu wählen. Besonders erfreulich waren die produktiven Diskussionen und die freundliche und persönliche Betreuung.

Frau Prof. Dr. H. Bunjes danke ich für die Erstellung des Zweitgutachtens.

Frau Prof. Dr. C. C. Müller-Goymann danke ich für den freundlichen Umgang, die anregenden fachlichen Diskussionen und vor allem für die Weiterbeschäftigung im Institut nach dem Weggang von Herrn Prof. Dr. Rolf Daniels nach Tübingen.

Ich danke weiterhin allen technischen und wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für das angenehme Arbeitsklima und die fachlichen Diskussionen. Insbesondere gilt dieser Dank Antje Bieder und Carmen Gröchte-meier für die tatkräftige Unterstützung bei meiner Arbeit.

Martin Buchholz danke ich für die unterstützende Beratung bei der Programmierung der Bildanalysesoftware.

Annette von Vietinghoff, Klaus Wengst und Martin Buchholz danke ich für das kritische Lesen dieser Arbeit und die konstruktiven Diskussionen.

Des Weiteren danke ich den im Material- und Methodenteil aufgeführten Firmen für das Überlassen von Versuchssubstanzen und besonders der GAKO Konietzko GmbH für die Schenkung eines Cito-Unguator® 2000.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ALLGEMEINER TEIL .....</b>	<b>3</b>
2.1	Tensidfreie Emulsionen .....	3
2.1.1	Stabilisierung von Emulsionen mit Polymeren .....	3
2.1.2	Stabilisierung von multiplen Emulsionen mit Polymeren .....	5
2.2	Multiple Emulsionen .....	6
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>11</b>
3.1	Material .....	11
3.1.1	Polymeremulgatoren .....	11
3.1.2	Eutanol® .....	13
3.1.3	Wasser .....	13
3.1.4	Kaliumchlorid .....	13
3.1.5	Zucker .....	14
3.1.6	Ambroxol HCl .....	14
3.2	Methoden .....	15
3.2.1	Herstellung der Phasen .....	15
3.2.2	Herstellung der Emulsionen .....	15
3.2.2.1	Herstellung mit dem Ultraturrax® .....	15
3.2.2.2	Herstellung mit dem Unguator® .....	16
3.2.3	Vergleich der thermischen Belastung durch Ultraturrax® und Unguator® 2000 .....	17
3.2.4	Bestimmung der Partikelgrößenverteilung bei wässriger Außenphase .....	18
3.2.5	Rheologische Untersuchungen .....	18
3.2.6	Grenzflächenspannungsmessung .....	19
3.2.7	Bestimmung des pK <sub>s</sub> -Wertes von Ambroxol HCl .....	19
3.2.8	Bestimmung des Verteilungskoeffizienten von Ambroxol HCl .....	20
3.2.9	Freisetzungsuntersuchungen von Ambroxol .....	20
3.2.9.1	Bestimmung nach Dialyse mit HPLC .....	20
3.2.9.2	Konduktometrische Freisetzungsuntersuchung .....	21
3.2.10	Bestimmung der Geschwindigkeit des pH-Wertausgleichs über eine Dialysemembran .....	22

3.3	Neu entwickelte Methoden .....	22
3.3.1	Bestimmung der Partikelgrößenverteilung bei öliger Außenphase .....	22
3.3.2	Bestimmung des Phasenverhältnisses der $W_1$ - zur $W_2$ -Phase .....	27
<b>4</b>	<b>VERSUCHSERGEBNISSE UND DISKUSSION.....</b>	<b>30</b>
4.1	Stabilitätsuntersuchungen .....	30
4.1.1	Stabilitätsuntersuchungen von mit dem Ultraturrax <sup>®</sup> hergestellten W/O/W-Emulsionen .....	32
4.1.1.1	Bestimmung des Phasenverhältnisses .....	35
4.1.1.2	Vergleich mit den Ergebnissen der Partikelgrößenbestimmung ....	37
4.1.1.3	Vergleich mit den Ergebnissen der rheologischen Untersuchung..	39
4.1.2	Stabilitätsuntersuchungen von mit dem Unguator <sup>®</sup> hergestellten W/O/W-Emulsionen .....	44
4.1.2.1	Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der W/O-Primäremulsion.....	45
4.1.2.2	Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der W/O/W-Emulsion ..	47
4.1.2.3	Bestimmung des Phasenverhältnisses .....	49
4.2	Verkapselung von Wirkstoffen in der $W_1$ -Phase .....	51
4.2.1	Freisetzungsmechanismen aus der inneren Wasserphase.....	51
4.2.1.1	Nachweis von Diffusion I.....	53
4.2.1.2	Nachweis von Diffusion II.....	57
4.2.2	Freisetzungsuntersuchungen.....	59
4.2.2.1	Schlussfolgerungen für Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung aus multiplen Emulsionen .....	70
<b>5</b>	<b>ABSCHLUSSDISKUSSION .....</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>78</b>

## 1 Einleitung und Problemstellung

Multiple Emulsionen sind komplexe, disperse flüssige oder halbfeste Systeme, deren disperse Phase kleine Tröpfchen der äußeren Phase enthält. Es existieren der W/O/W-Typ und der O/W/O-Typ. Die Herstellung erfolgt in der Regel in einem Zwei-Schritt-Verfahren. Zunächst wird im Falle des W/O/W-Typs die W/O-Primäremulsion hergestellt, indem die innere Wasserphase ( $W_1$ -Phase) in der Ölphase dispergiert wird. Im zweiten Herstellungsschritt wird die Primäremulsion in der äußeren Wasserphase ( $W_2$ -Phase) dispergiert. Das Vorgehen beim O/W/O-Typ ist analog. Abbildung 1.1 zeigt das mikroskopische Bild einer W/O/W-Emulsion.

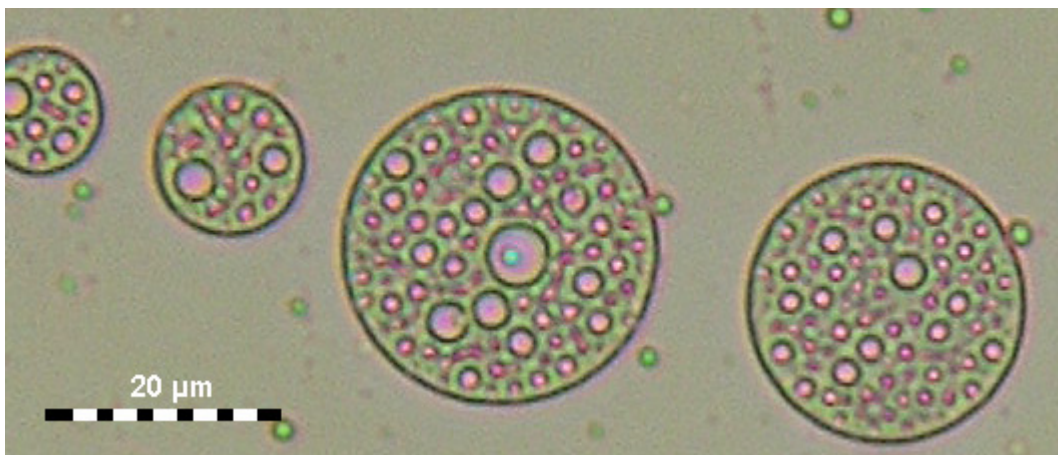


Abb. 1.1: Mikroskopische Aufnahme einer W/O/W-Emulsion.

Seit über 20 Jahren ist die Möglichkeit bekannt, multiple W/O/W-Emulsionen als vesikuläre Systeme zu verwenden, um hydrophile Wirkstoffe langsam und kontrolliert freizusetzen (Florence u. Whitehill, 1982). Multiple Emulsionen sind einfach und kostengünstig herzustellende flüssige Retardarzneiformen. Als solche sind sie besonders dann von Interesse, wenn klassische feste Retardarzneiformen nicht in Frage kommen. Dies könnte z. B. bei der Anwendung für Kleinkinder oder bei Patienten mit Schluckbeschwerden der Fall sein. Trotz intensiver Forschung gibt es jedoch bis heute noch kein zugelassenes Arzneimittel, das als multiple Emulsion formuliert ist.

Die drei wichtigsten Gründe hierfür sind die thermodynamische Instabilität, die aufgrund der zwei unterschiedlichen Grenzflächen problematischer ist als bei

„einfachen“ Emulsionen, die oft sehr schnelle Freisetzung des in die innere Wasserphase eingearbeiteten Arzneistoffs und die Schwierigkeit, den Arzneistoff bei längerer, gar mehrjähriger Lagerung in der inneren Wasserphase zu halten.

Normalerweise werden ionische oder nichtionische Tenside, sogenannte klassische Emulgatoren, verwendet, um für eine ausreichende Stabilität zu sorgen. Solche niedermolekularen, amphiphilen Substanzen weisen häufig eine begrenzte physiologische Verträglichkeit auf (Shukuwa et al., 1997).

Ziel dieser Arbeit ist es, stabile multiple Emulsionen durch die alleinige Verwendung von Polymeren als Emulgatoren zu entwickeln, da diese eine deutlich bessere physiologische Verträglichkeit aufweisen. Der Einsatz von Polymeren ist in der Entwicklung von multiplen Emulsionen besonders interessant, da sie die Freisetzung des in die  $W_1$ -Phase verkapselten Wirkstoffs verlangsamen (Garti u. Benichou, 2001a). Um dieses Ziel zu erreichen, steht die Entwicklung geeigneter Methoden zur Beurteilung der Stabilität von multiplen Emulsionen im Vordergrund der Arbeit. Besonders für die Bestimmung der Größenverteilung der inneren Wassertropfen und die Bestimmung des tatsächlichen Phasenverhältnisses gibt es noch keine etablierten Standardmethoden. Im zweiten Teil der Arbeit soll ein geeigneter hydrophiler Arzneistoff in die multiple Emulsion eingearbeitet und untersucht werden, welchen Einfluss die Formulierung auf die Freisetzung des Wirkstoffs aus der  $W_1$ -Phase hat.

## 2 Allgemeiner Teil

### 2.1 *Tensidfreie Emulsionen*

Emulsionen sind disperse Systeme und deshalb grundsätzlich thermodynamisch instabil. Eine ausreichende Lagerstabilität erfordert den Zusatz geeigneter Stabilisatoren. Im Allgemeinen wird versucht, die Stabilität von Emulsionen durch den Einsatz von „klassischen“ Emulgatoren zu verbessern. Hierbei handelt es sich um niedermolekulare, amphiphile Moleküle, die sich an der Phasengrenzfläche anlagern können und so zu einem Absinken der Grenzflächenspannung führen. Aufgrund ihrer amphiphilen Struktur können sie aber auch physiologische Nebenwirkungen verursachen, indem sie bei dermalen Anwendung direkt zu Irritationen führen oder die Penetration von anderen Rezepturbestandteilen in die Haut verbessern (Shukuwa et al., 1997). Bei peroraler Applikation kommt ihr schlechter Geschmack zum Tragen. Eine Alternative sind tensidfreie Emulsionen, bei denen grenzflächenaktive Polymere anstelle der klassischen Emulgatoren eingesetzt werden.

#### 2.1.1 Stabilisierung von Emulsionen mit Polymeren

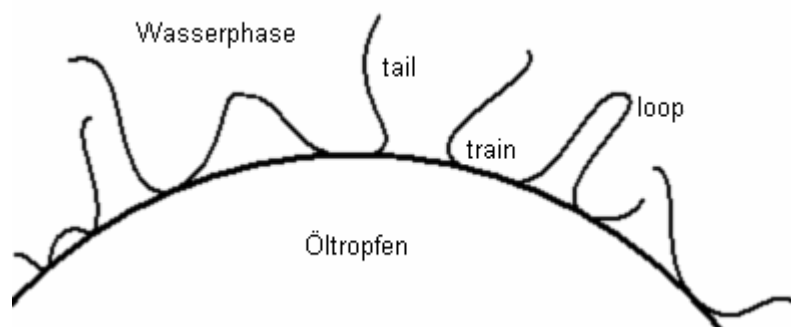


Abb. 2.1: Schematische Darstellung der Anordnung hydrophiler Polymere an der O/W-Phasengrenze.

Polymere, die amphiphile Eigenschaften haben, können Emulsionen sterisch stabilisieren. Sie lagern sich in der Grenzfläche an, indem sie Züge (trains), Schlaufen (loops) und Enden (tails) bilden (Abbildung 2.1). Bei O/W-Emulsionen ragen die Schlaufen und Enden in die wässrige Phase, bei W/O-Emulsionen in die ölige Phase (Dickinson, 1992, Sonntag et al., 1979). Zu dieser Anordnung der

Polymere kommt es durch die zufällig verteilten Substituenten. Hierdurch entstehen hydrophilere und lipophilere Bereiche. Die Adsorption der Polymere in der Grenzfläche ist meist irreversibel, da es sehr unwahrscheinlich ist, dass alle adsorbierten Molekülteile eines Polymers zum selben Zeitpunkt desorbieren (Friberg et al., 1990).

Die Polymere können auf diese Weise einen dichten Film um die dispersen Emulsionströpfchen bilden. Dies führt zu zwei Mechanismen der Abstoßung zweier sich annähernder Tropfen und damit zu einem Schutz vor Flockung und Koaleszenz. Wenn sich zwei Tropfen annähern, durchdringen sich die Enden und Schlaufen gegenseitig. Hieraus resultiert eine Erhöhung des osmotischen Druckes im Bereich zwischen den Tropfen. Zum Ausgleich fließt Lösungsmittel der äußeren Phase in den Zwischenbereich und drängt die beiden Tropfen wieder auseinander. Bei diesem Vorgang handelt es sich um Enthalpiestabilisierung (Sato u. Ruch, 1980). Zur Entropiestabilisierung kommt es, wenn im Überlappungsbereich der Polymerfilme zweier sich annähernder Tropfen die Polymere dicht gepackt werden und sich daher geordnet ausrichten müssen. Hierdurch sinkt die Entropie des Systems, was ebenfalls zu einem Auseinanderdriften der Tropfen führt (Sonntag et al., 1979).

Grundsätzlich sind alle Polymere mit amphiphilen Eigenschaften geeignet, Emulsionen zu stabilisieren. Die Gruppe um Daniels beschäftigt sich hierbei besonders mit Polymeren, die bereits pharmazeutisch akzeptiert und in Arzneibüchern monografiert sind, um so ihre pharmazeutische Anwendung und die dafür notwendige Zulassung zu erleichtern. Die Eignung von Hypromellose (Hydroxypropylmethylcellulose; HPMC), O/W-Emulsionen zu stabilisieren, konnte schon mehrfach nachgewiesen werden (Daniels u. Barta, 1991, Rimpler, 1996, Schulz u. Daniels, 2000). Deutlich schwieriger ist es, einen geeigneten lipophilen Polymeremulgator zu finden, der in gebräuchlichen Ölphasen löslich ist und eine merkliche Grenzflächenaktivität zeigt. Als monografierte Substanz steht Ethylcellulose (EC) zur Verfügung. Sie ist nicht in allen Ölen gut löslich, löst sich aber in Octyldodecanol und dessen Mischungen mit anderen Ölen. Mit diesen Ölphasen konnten bereits stabile W/O-Emulsionen hergestellt werden (Melzer et al., 2003). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass bei diesem System nicht nur



die zuvor genannten Stabilisierungsmechanismen eine Rolle spielen, sondern dass es hier zum Ausfallen von Ethylcellulose an der Phasengrenze kommt und die Emulsion so im Sinne einer Pickering-Emulsion stabilisiert wird (Melzer, 2000).

### **2.1.2 Stabilisierung von multiplen Emulsionen mit Polymeren**

Bei der Herstellung multipler W/O/W-Emulsionen ist der Einsatz von Polymeren zur Stabilisierung besonders positiv zu bewerten. Der Einsatz von „klassischen“ Emulgatoren führt während der Herstellung zu großen instabilen Öltröpfen und der W/O-Emulgator kann Mizellen bilden, die Wasser und verkapselte Wirkstoffe solubilisieren und durch die Ölphase in die äußere W-Phase transportieren können (Garti u. Benichou, 2001b). Polymeremulgatoren bieten im Gegensatz dazu einige Vorteile. Da die Bildung von Mizellen im Allgemeinen ausgeschlossen wird, ist mit einem längeren Verbleib des Wirkstoffs in der inneren Phase zu rechnen (Garti u. Benichou, 2001b). Der zur wässrigen Außenphase zugesetzte Polymeremulgator erhöht außerdem deren Viskosität, wodurch die Aufräumung verlangsamt wird. Die Zugabe des hydrophilen Polymeremulgators auch zur inneren Wasserphase wird positiv bewertet, da dies die Stabilität der Emulsion erhöht und die Freisetzung des verkapselten Wirkstoffs verlangsamt (Wengst u. Daniels, 2004, Garti et al., 1994).

In ersten Untersuchungen wurden Kombinationen aus nichtionischen klassischen Emulgatoren und biologischen Proteinen, wie Rinderserumalbumin oder Gelatine, verwendet (Garti et al., 1994, Vaziri u. Warburton, 1994), wobei eine Komplexbildung zwischen dem niedermolekularen Emulgator und dem Polymeremulgator zu beobachten war. Dieser Komplex bildet einen viskoelastischen Film an beiden Grenzflächen, wodurch die Stabilität verbessert und die Freisetzung eines in der inneren Wasserphase vorliegenden hydrophilen Stoffes verlangsamt wurde.

Weitere Versuche, die Stabilität von multiplen Emulsionen zu verbessern, wurden mit speziell für diesen Zweck neu entwickelten und synthetisch hergestellten Polymeremulgatoren unternommen. Sela et al. (1994) stellten Copolymere her, indem sie Polysiloxane an Polyethylene knüpften. Dhanorkar et al. (2001) synthetisierten neue Polymere auf der Basis von Harzen. Mit diesen neuen Emulgatoren konnten sehr feine W/O-Emulsionen mit engen

Tröpfchengrößenverteilungen hergestellt werden. Auch die im zweiten Schritt hergestellten W/O/W-Emulsionen bestanden aus kleinen Öltröpfchen und zeigten eine gute Stabilität.

## **2.2 Multiple Emulsionen**

Die Beschreibung multipler Tropfen in Emulsionen tauchte zum ersten Mal 1890 auf (Boys, 1890). Die erste wissenschaftliche Abhandlung stammt aus dem Jahr 1925 (Seifritz, 1925). Bis in die sechziger Jahre des letzten Jahrhunderts blieben multiple Emulsionen aber eine Laborkuriosität, die vor allem während der Herstellung von Emulsionssystemen bei Phaseninversionen auftraten. Erst in den sechziger Jahren wurden dann multiple Emulsionen gezielt auf eine pharmazeutische Anwendung hin untersucht (Herbert, 1965, Engel et al., 1968). Seitdem gibt es eine Vielzahl von Untersuchungen an multiplen Emulsionen mit dem Ziel, sich den vesikulären Charakter dieser fließfähigen Arzneiform zu Nutze zu machen. Der Arzneistoff wurde in die  $W_1$ -Phase eingearbeitet, um:

- a) ihn vor schädigenden Einflüssen während der Lagerung oder der Anwendung zu schützen,
- b) unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu reduzieren,
- c) inkompatible Wirkstoffe voneinander in der Formulierung zu trennen,
- d) eine verzögerte Freisetzung des Arzneistoffs aus der Formulierung zu erhalten.

Auch wenn die Anwendungsgebiete für multiple Emulsionen sehr unterschiedlich sind, so sind doch die Probleme, die die Entwickler dieser Systeme lösen müssen, sehr ähnlich. Als fein oder grob disperse Systeme sind multiple Emulsionen genauso wie einfache Emulsionen thermodynamisch instabil. Durch Koaleszenz und damit Vergrößerung der Tropfen wird die Oberflächenenergie verringert. Diese Instabilität, die Möglichkeit der Flockung und die Tendenz zur Aufrahmung oder Sedimentation teilen sich multiple Emulsionen mit den „einfachen“ Emulsionen. Hinzu kommen aber noch die Schwierigkeit, den multiplen Charakter über die Lagerung zu erhalten, und das Problem, den verkapselten Arzneistoff in der  $W_1$ -Phase zu halten. Dies sind die Gründe, aus denen trotz intensiver Forschung noch

kein pharmazeutisches Produkt auf Basis einer multiplen Emulsion die Marktreife erlangt hat.

Die Gründe, weshalb es sich trotzdem lohnt, sich mit multiplen Emulsionen zu beschäftigen, liegen in den zuvor genannten Möglichkeiten dieser Arzneiform. Im Folgenden sollen erfolgversprechende Beispiele der jeweiligen Ansätze beschrieben werden.

Zu a) Die Möglichkeit, Peptidarzneistoffe durch Einschluss in die  $W_1$ -Phase vor der Zersetzung im Magen-Darm-Trakt zu schützen, ist besonders für Insulin faszinierend, da es für Insulin keine perorale Formulierung gibt und es daher in der Dauertherapie parenteral angewendet werden muss. Schon Engel et al. (1968) konnten eine blutzuckersenkende Wirkung bei Nagern nach intraduodenaler Gabe von insulinhaltigen W/O/W-Emulsionen zeigen. Die blutzuckersenkende Wirkung konnte aber nur bei Tieren mit normalem Blutzuckerhaushalt gezeigt werden. Shichiri et al. (1976) konnten eine blutzuckersenkende Wirkung nach oraler Gabe in den Magen nachweisen. Sie lag aber nur bei 1 % der Wirkung nach intramuskulärer Gabe. Morishita et al. (1998) und Suzuki et al. (1998) konnten durch den Zusatz von Permeationsförderern, besonders durch ungesättigte Fettsäuren, den Blutglucosespiegel merklich senken. Bei einem Zusatz von 2 % Linolensäure und coloner Gabe konnte der Ausgangsglucosespiegel nach zwei Stunden auf 20 % gesenkt werden. Die relative Effektivität im Vergleich zur subkutanen Anwendung lag bei über 10 %. Auffällig war aber auch der Einfluss des für die Applikation gewählten Darmabschnitts. Je tiefer der Darmabschnitt war, in den appliziert wurde, desto stärker war die blutzuckersenkende Wirkung ausgeprägt (Morishita et al., 1998). Silva Cunha et al. (1997a) bestimmten im Gegensatz zu den zuvor genannten Autoren auch wichtige pharmazeutisch-technologische Charakteristika von insulinhaltigen W/O/W-Emulsionen, wie die Teilchengrößenverteilung und die Einschlusseffizienz. Die Einschlusseffizienz lag bei über 95 % und ging bei sechsmonatiger Lagerzeit bei 4-6 °C nur leicht zurück. Bei peroraler Gabe an Ratten ging der Blutzuckerspiegel ausschließlich bei Ratten mit künstlichem Diabetes leicht zurück, nicht jedoch bei gesunden Tieren (Silva Cunha et al., 1997b).

Insgesamt wäre es wünschenswert, wenn in diesem Bereich mehr auf die physikalisch-chemische Charakterisierung der multiplen Systeme eingegangen würde. Das wäre für eine Bewertung der Bedeutung technologischer Parameter für die biologische Wirkung dieser Systeme notwendig (Bunjes, 2007).

Zu b) Ein Erfolg versprechendes Beispiel für den Schutz des Organismus vor Bestandteilen der Arzneiform lieferten Tomasi et al. (1997). Durch Einarbeiten eines Modelantigens und des als Adjuvans verwendeten Choleratoxins in die  $W_1$ -Phase einer multiplen Emulsion wurde eine gleichwertige Immunantwort erreicht wie nach der Gabe der beiden Stoffe in Lösung. Zu den beträchtlichen Nebenwirkungen des Choleratoxins auf die Darmendothelzellen kam es bei der Verwendung der multiplen Emulsion aber nicht. Weitere Vorteile dieser Formulierung lagen im zumindest teilweisen Schutz der Proteinwirkstoffe vor dem intestinalen Abbau und in der Anreicherung der Emulsionstropfen in den immunologisch aktiven Peyerschen Plaques des Darms.

Zu c) Ein Beispiel für die Trennung zweier inkompatibler Wirkstoffe kommt aus dem Feld der Aknetherapie. Carlotti et al. (2004) arbeiteten Mandelsäure in die  $W_1$ -Phase, Triclosan in die Ölphase und Chlorhexidin in die  $W_2$ -Phase ein. Eine Interaktion zwischen Mandelsäure und Chlorhexidin sollte hierdurch verhindert werden. Eine Interaktion wurde ausgeschlossen, da in Versuchen mit Mandelsäure in der  $W_1$ -Phase eine sehr langsame Freisetzung gezeigt wurde. Es wurde nur ca. 1 % der Mandelsäure in 150 min freigesetzt. Kritisch angemerkt werden muss aber, dass auch eine Emulsion, die Mandelsäure in der  $W_2$ -Phase enthielt, nur 2 % in 150 min freisetzte. Außerdem wurde nach sechs Monaten die Stabilität der Zubereitung angenommen, da keine Phasentrennung eingetreten war. Es wurde aber nicht überprüft, ob die Wirkstoffe tatsächlich noch in den Phasen vorlagen, in denen sie bei der Herstellung eingearbeitet wurden.

Zu d) Die Retardierung eines niedermolekularen Wirkstoffes durch Einarbeitung in die  $W_1$ -Phase einer multiplen Emulsion war eines der Ziele der eigenen Untersuchungen. In diesem Absatz sollen Arbeiten vorgestellt werden, die mit anderen Arzneistoffen und anders zusammengesetzten Rezepturen das gleiche

Ziel verfolgt haben. In der Abschlussdiskussion werden diese Arbeiten noch einmal kritisch diskutiert.

Mishra und Pandit (1990) konnten sowohl in vitro als auch in vivo zeigen, dass der Zusatz von osmotisch aktiven Substanzen entweder zur  $W_1$ - oder zur  $W_2$ -Phase einen Einfluss auf die Freisetzungsgeschwindigkeit von Pentazocin hat. Je mehr osmotisch aktive Substanz der inneren Wasserphase zugesetzt wurde, desto schneller verlief die Freisetzung. Erklärt wurde dieser Zusammenhang mit dem Anschwellen der inneren Wassertropfen und dem dadurch dünner werdenden Ölfilm, der die  $W_1$ -Phase von der  $W_2$ -Phase trennt. In den In-vivo-Untersuchungen wurden über einen Zeitraum von acht Stunden deutlich erhöhte Plasmawerte gemessen, wenn nur der  $W_2$ -Phase 1 % Natriumchlorid zugesetzt wurde.

Die Freisetzung von Rifampicin aus der inneren Wasserphase einer W/O/W-Emulsion wurde von Nakhare und Vyas (1995) im Bezug auf die verwendete Ölphase und den Volumenanteil der Wasserphase in der Primäremulsion untersucht. Als Ölphasen wurden Isopropylmyristat, Sesamöl und dünnflüssiges Paraffin verwendet. Gemessen wurde die kumulative Freisetzung nach sechs Stunden. Sie lag zwischen 16 und 22 %. Die schnellste Freisetzung zeigte die Formulierung mit Isopropylmyristat. Dies wurde erklärt durch den im Vergleich höchsten Verteilungskoeffizienten und die damit schnellere Diffusion durch die Ölphase. Darüber hinaus wurde in der Rezeptur mit Isopropylmyristat der Anteil des Wassers in der Primäremulsion zwischen 20 und 60 % variiert. Je höher der Wasseranteil lag, desto schneller wurde Rifampicin aus der Rezeptur freigesetzt.

Roy und Gupta (1993) untersuchten die in vitro - in vivo Korrelation der Indometacinfreisetzung aus W/O/W-Emulsionen, deren wässrige Phasen unterschiedliche Konzentrationen Hypromellose enthielten. Die Stabilität der Formulierung stieg mit der Hypromellosekonzentration, während sich die Freisetzung verlangsamte. Je nach Konzentration wurde in vitro eine Freisetzung zwischen 10 und 90 % nach sechs Stunden gemessen. Die In-vivo-Daten zeigten zu diesen Ergebnissen eine gute Korrelation.

Mit der kontrollierten und retardierten Freisetzung von Diclofenac-Natrium haben sich schon mehrere Gruppen beschäftigt. Bereits 1994 untersuchten Nakhare und

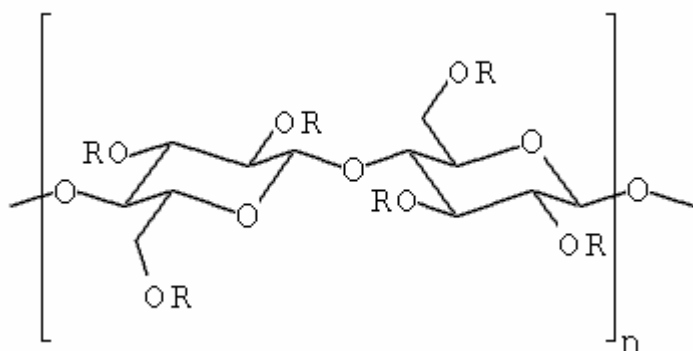
Vyas den Einfluss des pH-Wertes der wässrigen Phasen und den Einfluss von Zusätzen von Calciumstearat und Sojalecithin auf die Freisetzung des Arzneistoffs aus der  $W_1$ -Phase (Nakhare u. Vyas, 1994). In einer späteren Arbeit (Nakhare u. Vyas, 1996) stellten die Autoren mit Makromolekülen stabilisierte W/O/W-Emulsionen her und konnten eine hohe Einschussrate und in In-vivo-Untersuchungen über einen längeren Zeitraum erhöhte Blutspiegel von Diclofenac-Natrium zeigen. Lindenstruth und Müller (2004) untersuchten den Einfluss der Größenverteilung der inneren Wassertröpfchen auf die während der Herstellung auftretende Verringerung der Einschussrate von Diclofenac-Natrium in der inneren Wasserphase. Sie konnten zeigen, dass die höchste Einschussrate mit den kleinsten Wassertropfen erreicht wurde und dass die Wassertropfen deutlich kleiner sein sollten als die im zweiten Herstellungsschritt entstehenden Öltropfen.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 *Material*

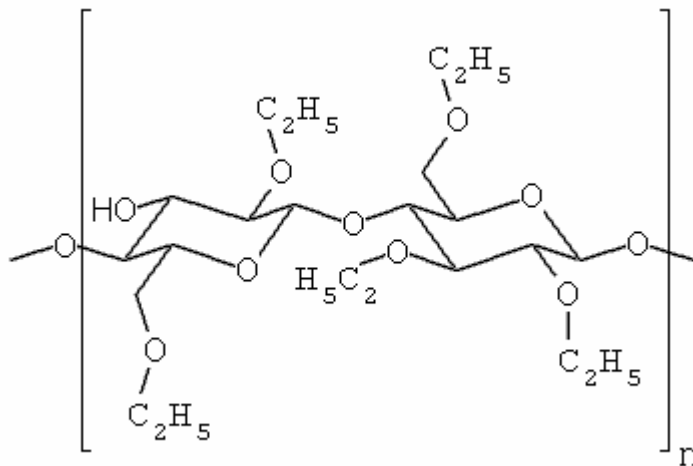
#### 3.1.1 Polymeremulgatoren

##### Hypromellose



R: H,  $-CH_3$  und  $-CH_2CHOHCH_3$

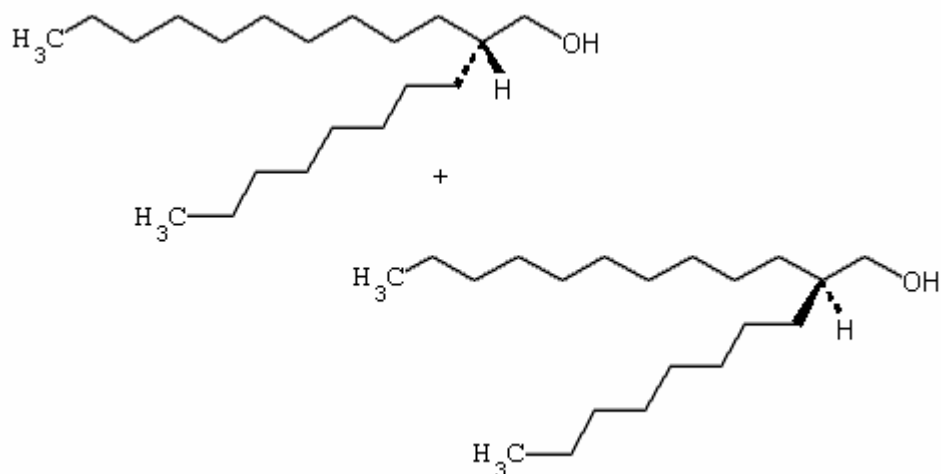
Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) ist ein teilweise O-methylierter bzw. O-(2-hydroxypropylierter) Cellulosemischether. In dieser Arbeit wurde Metolose® 90SH-100 (Shin-Etsu, Tokyo, Japan) verwendet. Sie entspricht dem Substitutionstyp 2208 nach USP. Der Gehalt an Methoxylgruppen muss danach zwischen 19,0 und 24,0 % und der Gehalt an Hydroxypropylgruppen zwischen 4,0 und 12,0 % liegen. Die Substanz ist auch im Europäischen Arzneibuch 5.0 aufgeführt. Sie ist löslich in kaltem Wasser unter Bildung einer kolloidalen Lösung und praktisch unlöslich in heißem Wasser, Aceton, wasserfreiem Ethanol und Toluol. Die verwendete Charge 206314 entspricht den Anforderungen nach USP.

**Ethocel®**

Ethylcellulose (EC) ist ein Ethylether der Cellulose. In dieser Arbeit wurde Ethocel® Standard 10 premium (Dow Deutschland GmbH, Schwalbach, Deutschland) verwendet. Der Substitutionsgrad gibt an, wie viele der Hydroxylgruppen verethert vorliegen. Der maximale Substitutionsgrad liegt bei 3. Für Ethylcellulose liegt er zwischen 2,3 und 2,55. Dies entspricht dem im Europäischen Arzneibuch 5.0 angegebenen Gehalt von Ethoxygruppen zwischen 44,0 und 51,0 %. Da nur noch ein sehr geringer Teil der Hydroxylgruppen frei vorliegt, ist die Substanz praktisch unlöslich in Wasser. Löslich ist Ethylcellulose in organischen Lösungsmitteln wie Estern, aromatischen Kohlenwasserstoffen, Alkoholen, Ketonen und chlorierten Solventien. Die verwendete Charge QF16013T01 entspricht den Anforderungen nach USP, EP und JP.



### 3.1.2 Eutanol®



Octyldodecanol ist ein Kondensationsprodukt von gesättigten, flüssigen Fettalkoholen. In dieser Arbeit wurde Eutanol® G (Cognis GmbH & Co. KG, Düsseldorf, Deutschland) verwendet. Nach Europäischem Arzneibuch 5.0 liegt der Gehalt von (2RS)-2-Octyldodecan-1-ol bei mindestens 90 %. Der Rest besteht hauptsächlich aus verwandten Alkoholen. Es ist eine klare, farblose bis gelbliche, ölige Flüssigkeit, die praktisch unlöslich in Wasser ist. Die verwendete Charge CD3023001 entspricht den Anforderungen nach EP.

Octyldodecanol ist nach Angaben des Herstellers toxikologisch unbedenklich. Des Weiteren wurde die orale Gabe bei Ratten, die Anwendung am Auge und auf der Haut von Kaninchen getestet (Fiedler, 1981, Potokar u. Gloxhuber, 1982).

### 3.1.3 Wasser

Es wurde bidestilliertes Wasser verwendet. Die Leitfähigkeit des verwendeten Wassers lag zwischen 1,0 und 1,5  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

### 3.1.4 Kaliumchlorid

Kaliumchlorid (Caesar & Loretz GmbH, Hilden, Deutschland) wurde als Beispielsubstanz zur Einarbeitung in die multiple Emulsion verwendet. Kaliumchlorid eignet sich besonders gut für eine konduktometrische Bestimmung, da über einen sehr großen Konzentrationsbereich ein linearer Zusammenhang

zwischen der Konzentration und der resultierenden Leitfähigkeit besteht. Kaliumchlorid wird aufgrund dieser Eigenschaft auch zum Kalibrieren von Konduktometern verwendet. Eine 0,01 molare Lösung hat eine Leitfähigkeit bei 20 °C von 1278  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Die molare Masse beträgt 74,56 g/mol.

### 3.1.5 Zucker

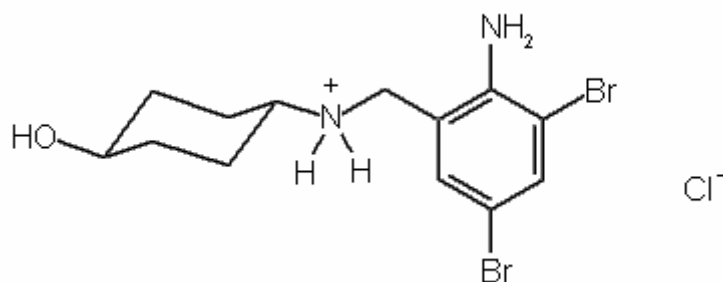
#### Glucose

Glucose ist eine Hexose. In dieser Arbeit wurde Glucose-Monohydrat (Caesar & Loretz GmbH, Hilden, Deutschland) verwendet. Eingesetzt wurde sie, um bei konduktometrischen Messungen Emulsionen isoosmotisch zu verdünnen. Die molare Masse des Monohydrates beträgt 198 g/mol.

#### Mannitol

Mannitol (Caesar & Loretz GmbH, Hilden, Deutschland) ist ein sechswertiger Zuckeralkohol. Es wurde bei der Herstellung von multiplen Emulsionen eingesetzt, wenn diese aus unterschiedlichen Wasserphasen zusammengesetzt waren, um den osmotischen Druck der Wasserphasen anzugleichen. Mannitol wurde an dieser Stelle Glucose vorgezogen, um einen mikrobiologischen Befall nicht zu fördern. Die molare Masse von Mannitol beträgt 182 g/mol.

### 3.1.6 Ambroxol HCl



Ambroxol HCl ist schon lange als Expektorans im Einsatz. Seit kurzem wird es aufgrund seiner lokalanästhetischen Wirkung auch in Form von Lutschtabletten gegen Halsschmerzen eingesetzt. Des Weiteren wurde eine gesteigerte Produktion von Surfactant beobachtet. Diese Wirkung führte zu einer neuen Indikation. Ist bei einer Schwangerschaft ein zu früher Geburtstermin absehbar, kann durch die

intravenöse Gabe von Ambroxol an die Schwangere beim Kind die Produktion von Surfactant ausgelöst werden, die physiologisch erst in den letzten Schwangerschaftswochen eintreten würde.

## **3.2 Methoden**

### **3.2.1 Herstellung der Phasen**

#### **W-Phasen**

Zum Herstellen der W-Phase wurde bidestilliertes Wasser zum Sieden gebracht und auf die Hypromellose aufgegossen. Am Ende des Kaltrührens wurde das verdunstete Wasser ergänzt. KCl, Mannitol oder Ambroxol HCl wurden bei Raumtemperatur unter Rühren in der Hypromelloseselösung gelöst.

#### **Ölphase**

Eutanol<sup>®</sup> wurde mit einem Heizrührer auf 95 °C erwärmt und die Ethylcellulose langsam eingestreut. Nach einer Stunde entstand eine klare, leicht gelbliche Lösung. Bei dieser Vorgehensweise kann davon ausgegangen werden, dass es weder zur Zersetzung des Eutanol<sup>®</sup> noch der Ethylcellulose kommt (Melzer, 2000).

### **3.2.2 Herstellung der Emulsionen**

Sämtliche multiplen Emulsionen wurden im Verlauf dieser Arbeit im Zweischrittverfahren hergestellt. Im ersten Schritt wurde die W/O-Primäremulsion durch Dispergieren der inneren Wasserphase (W<sub>1</sub>-Phase) in der Ölphase erzeugt. Im zweiten Schritt wurde die Primäremulsion in der äußeren Wasserphase (W<sub>2</sub>-Phase) dispergiert.

#### **3.2.2.1 Herstellung mit dem Ultraturrax<sup>®</sup>**

Verwendet wurde ein Dispergiergerät, das nach dem Rotor-Stator-Prinzip arbeitet (Ultraturrax<sup>®</sup>, Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland). Durch den hohen dissipierten Wärmestrom kommt es gerade bei steigender Viskosität der Formulierung zu einer deutlichen Temperaturerhöhung der Zubereitung. Daher wurde die Herstellung in einem doppelwandigen Stahlgefäß mit Wasserkühlung/-heizung durchgeführt.

### **Herstellung der W/O-Primäremulsion**

Zunächst wurde die gesamte Ölphase, die 2 % EC enthielt, im Stahlgefäß auf 30 °C erwärmt. Die ebenfalls auf 30 °C erwärmte W<sub>1</sub>-Phase, in der 2,5 % HPMC und 0,6 % KCl gelöst waren, wurde dann tropfenweise bei 10.000 min<sup>-1</sup> über 4 min in der Ölphase dispergiert. Durch Wasserkühlung während der Herstellung wurde die Temperatur unter 60 °C gehalten. Es wurden jeweils 450 g Emulsion mit einem Phasenverhältnis von 33:67 W:O hergestellt.

### **Herstellung der W/O/W-Emulsion**

Im zweiten Herstellungsschritt wurde die Primäremulsion langsam über 12 min in die auf 30 °C vorgewärmte W<sub>2</sub>-Phase gegeben. Die Dispergierung erfolgte mit dem Ultraturrax® bei 7.000 min<sup>-1</sup>. Es wurden 56,2 % bis 75,0 % Primäremulsion in die W<sub>2</sub>-Phase eingearbeitet. Ziel war das Erreichen eines möglichst großen Anteils an innerer Wasserphase in der W/O/W-Emulsion. Bei der Einarbeitung von 75 % Primäremulsion ergibt sich ein theoretisches Phasenverhältnis von 25:50:25 W:O:W. Hergestellt wurden jeweils 400 g Emulsion.

#### **3.2.2.2 Herstellung mit dem Unguator®**

Mit dem oben vorgestellten Verfahren war es nicht möglich, bei der Herstellung der Primäremulsion mehr als 33 % W<sub>1</sub>-Phase in der Ölphase zu dispergieren. Bei dem Versuch, einen höheren Anteil Wasserphase in die Ölphase einzuarbeiten, kam es zur Phasenumkehr. Der Unguator®, ein Rührwerk, das die Formulierung deutlich geringer thermisch belastet als der Ultraturrax®, stellte sich als geeignet heraus, Primäremulsionen mit höherem Innenphasenanteil herzustellen.

### **Herstellung der W/O-Primäremulsion**

Zur Herstellung der Primäremulsion wurde daher ein Rührwerk (Unguator®, GAKO Konietzko GmbH, Bamberg, Deutschland) verwendet. Da Emulsionen mit sehr hohem Innenphasenanteil hergestellt wurden, wurde die Wasserphase in sechs Portionen zur Ölphase gegeben und zwei Minuten bei Stufe 2 homogenisiert. Soweit nicht anders vermerkt, wurde nach der letzten Zugabe noch einmal zwei Minuten bei Stufe 9 homogenisiert. Als Polymeremulgatoren wurden der

Wasserphase 2,5 % HPMC und der Ölphase 6 % EC zugesetzt. Je nach System enthielt die Wasserphase zusätzlich 0,6 % KCl als leitfähige Substanz, 1,25 % Ambroxol HCl als Arzneistoff oder 2,1 % Mannitol zum Anpassen an den osmotischen Druckes der anderen Wasserphase. Hergestellt wurden jeweils 100 g Emulsion.

### **Herstellung der W/O/W-Emulsion**

Im zweiten Herstellungsschritt wurde ebenfalls der Unguator® verwendet. Hier wurde die Primäremulsion in vier Schritten zur  $W_2$ -Phase gegeben und für jeweils zwei Minuten bei Stufe 2 homogenisiert. Die äußere Wasserphase ist, sofern nicht anders beschrieben, genau wie die innere Wasserphase zusammengesetzt. Hergestellt wurden jeweils 100 g Emulsion.

Zur Herstellung der Emulsionen, die im Kapitel Freisetzungsuntersuchungen beschrieben sind, wurde statt des Unguator® e der Unguator® 2000 (GAKO Konietzko GmbH, Bamberg, Deutschland) verwendet. Die Herstellung wurde an die Bedingungen der Herstellung mit dem Unguator® e angepasst<sup>1</sup>.

### **3.2.3 Vergleich der thermischen Belastung durch Ultraturrax® und Unguator® 2000**

In diesem Versuch wird ermittelt, in welchem Verhältnis der bei der Homogenisierung mit einem Ultraturrax® dissipierte Wärmestrom zu dem bei der Homogenisierung mit einem Unguator steht. Hierzu wurde mit beiden Geräten dieselbe Emulsion hergestellt. Die Ölphase bestand aus Eutanol® und 2 % Ethylcellulose, die W-Phase aus einer 2,5 %igen Hypromelloselösung. Als Phasenverhältnis wurde 67 % Ölphase zu 33 % W-Phase gewählt. Mit dem Ultraturrax® wurden 450 g W/O-Emulsion hergestellt, mit dem Unguator® 100 g. Die Herstellung fand unter annähernd adiabatischen Bedingungen statt. Während der Herstellung wurde die Temperatur in der Emulsion gemessen. Im Zeitraum zwischen 90 und 240 s nach Beginn der Herstellung ergab sich bei beiden Verfahren ein linearer Temperaturanstieg. Bei der Herstellung mit dem Ultraturrax® betrug der Temperaturanstieg in diesem Zeitraum 11,5 K/min, bei der mit dem Unguator®

---

<sup>1</sup> Stufe 2: Anreiben=0; Freischleudern=1; Hubdrehzahl=996; Rührdrehzahl=840; Hubanzahl=40  
Stufe 9: Anreiben=0; Freischleudern=1; Hubdrehzahl=996; Rührdrehzahl=2040; Hubanzahl=40

1,5 K/min. Das Produkt aus der Temperaturveränderung pro Zeit und der Masse der Emulsion zeigt, dass bei der Verwendung des Ultraturax® ein ca. 35-mal größerer Wärmestrom dissipiert wird als bei der Verwendung des Unguators®.

### **3.2.4 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung bei wässriger Außenphase**

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der Öltropfen in den O/W- und W/O/W-Emulsionen wurde das LS 230 (Beckman Coulter GmbH, Krefeld) verwendet. Zur Messung wird die Laserdiffraktometrie mit der PIDS-Technologie (Polarisation Intensity Differential Scattering) kombiniert. Durch Nutzung der PIDS-Technologie, die auf der Streuung von polarisiertem Licht basiert, wird der Messbereich der Laserdiffraktometrie in den Submikronbereich erweitert. Das LS 230 hat einen Messbereich von 0,04 µm bis 2000 µm (Müller u. Schuhmann, 1996). Die Emulsionen wurden ohne vorherige Verdünnung in die mit demineralisiertem Wasser gefüllte Messzelle gegeben. Eine für die Messung ausreichende Befüllung wurde vom Messgerät angezeigt und war nach wenigen Tropfen Emulsion erreicht.

### **3.2.5 Rheologische Untersuchungen**

Rheologische Untersuchungen wurden an einem Rheometer Typ CVO 50 (Bohlin Instruments, Pforzheim, Deutschland) durchgeführt. Die Messgrößen wurden mit der geräteeigenen Software berechnet (Softwareversion 6.30, 1998). Als Messgeometrie diente die Kegel-Platte-Einrichtung CP 4/40 mit einem Kegelöffnungswinkel von 4° und einem Durchmesser von 40 mm. Der Messspalt betrug 150 µm. Um ein Abdunsten von Wasser aus den Formulierungen zu vermeiden, wurde eine Lösemittelfalle MK2 (Bohlin Instruments, Pforzheim, Deutschland) aus Acryl verwendet, deren saugfähiger Filzeinsatz mit Wasser befeuchtet wurde. Alle Messungen erfolgten unter isothermen Bedingungen von +20 °C.

Die Oszillationsmessungen wurden im linear viskoelastischen Bereich bei einer konstanten Schubspannung von 20 Pa und einer konstanten Frequenz von 5 Hz

durchgeführt. Über 90 s wurden zehn Messwerte aufgenommen. Der Wert für die komplexe Viskosität wurde als Mittelwert der letzten acht Messwerte gewonnen.

### 3.2.6 Grenzflächenspannungsmessung

Für die Bestimmung von Grenzflächenspannungen zwischen den verwendeten Phasen wurde das Prozessor-Tensiometer K100 mit der Tensiometer-Software LabDesk (Krüss GmbH, Hamburg, Deutschland) verwendet. Als Methode wurde die Ringmethode ohne Abriss gewählt. Bei dieser Methode wird der Ring in die Oberfläche der Phase mit der höheren Dichte gebracht und dann mit der Phase der geringeren Dichte überschichtet. Beim Absenken der Probe entsteht eine Lamelle der unteren Phase in der oberen Phase. Bei Dehnung der Lamelle wird ein Kraftmaximum durchlaufen, das sich vor dem Abriss ausbildet. Bevor es zum Abriss kommt, wird der Abstand des Ringes von der Grenzfläche wieder verringert und das Kraftmaximum wird ein weiteres Mal durchlaufen. Die Grenzflächenspannung berechnet sich nach folgender Formel:

$$\gamma = \frac{F_{\max} - F_v}{L \cdot \cos \theta}$$

$\gamma$ : Grenzflächenspannung  
 $F_{\max}$ : Kraftmaximum  
 $F_v$ : Gewichtskraft des angehobenen Flüssigkeitsvolumens  
 $L$ : Umfang des PtIr-Ringes  
 $\theta$ : Kontaktwinkel

Um die unterschiedlich starke Krümmung der Lamelle außerhalb und innerhalb des Ringes auszugleichen, wurde von der Gerätesoftware eine Korrekturrechnung nach Zuidema und Waters durchgeführt.

Für jede Einzelmessung wurde das Kraftmaximum 20-mal durchlaufen, jeder Messwert basiert auf fünf Einzelmessungen.

### 3.2.7 Bestimmung des pK<sub>s</sub>-Wertes von Ambroxol HCl

Der pK<sub>s</sub>-Wert von Ambroxol HCl wurde potentiometrisch bestimmt. Verwendet wurde ein Titrationsautomat (702 SMTitrino, Metrohm, Filderstadt, Deutschland). 3,11 g Ambroxol HCl wurden in 196,89 g bidestilliertem Wasser gelöst. Es wurde mit NaOH-Lösung (1 mol/l) titriert. Aus der Einwaage ergibt sich rechnerisch ein

Verbrauch von 7,5 ml NaOH-Lösung bis zum Äquivalenzpunkt, der bei der Messung auch an dieser Stelle auftrat. Der pH-Wert beim halben Verbrauch entspricht dem  $pK_s$ -Wert.

### **3.2.8 Bestimmung des Verteilungskoeffizienten von Ambroxol HCl**

Um den Verteilungskoeffizienten für Ambroxol zwischen der W-Phase und der Ölphase bei unterschiedlichen pH-Werten zu bestimmen, wurde wie folgt vorgegangen. Zunächst wurde 1 g Ambroxol-haltige W-Phase mit 2 g des jeweiligen Freisetzungsmediums gemischt, um den pH-Wert auf den pH-Wert der Freisetzung einzustellen. Zu diesen 3 g wurden in einem 15 ml Zentrifugenröhrchen 3 g Ölphase (6 % Ethylcellulose in Eutanol<sup>®</sup>) gegeben. Diese Mischung wurde mit einem Tubulamischer bei niedrigster Stufe drei Stunden geschüttelt. Danach wurden die beiden Phasen durch 20-minütiges Zentrifugieren bei  $5000 \text{ min}^{-1}$  wieder voneinander getrennt. Die Konzentration des Ambroxols in der W-Phase wurde mittels HPLC, wie unter Abschnitt 3.2.9.1 beschrieben, bestimmt.

### **3.2.9 Freisetzungsuntersuchungen von Ambroxol**

Die Freisetzungsuntersuchungen sollten zeigen, inwieweit die Arzneiform die Freisetzung des verkapselt vorliegenden Wirkstoffs Ambroxol beeinflusst. In der Literatur sind für Freisetzungsuntersuchungen aus multiplen Emulsionen im Wesentlichen zwei Methoden gebräuchlich. Diese Methoden wurden an die konkreten Problemstellungen angepasst:

#### **3.2.9.1 Bestimmung nach Dialyse mit HPLC**

Da Ambroxol HCl peroral eingenommen wird, wurde die Methode des Europäischen Arzneibuchs für die Wirkstofffreisetzung aus festen Arzneiformen als Grundlage für die Bestimmung verwendet. Freigesetzt wurde in der Blattrührer-Apparatur bei  $37^\circ\text{C}$  und einer Rührgeschwindigkeit von  $50 \text{ min}^{-1}$ . Die multiple Emulsion wurde nicht direkt, sondern in einem an den Seiten verschlossenen Dialyseschlauch (MWCO: 6-8 kDa) ins Freisetzungsmedium gegeben. Der Dialyseschlauch hält die Öltröpfchen zurück und erleichtert so die Bestimmung des



freigesetzten Wirkstoffs. Zu den Messzeiten wurde 250 µl Medium entnommen und die Konzentration des freigesetzten Ambroxols mit HPLC (Hochleistungs-Flüssigchromatographie) bestimmt. Als Freisetzungsmedien wurden entweder 200 ml Salzsäurelösung (pH 1,0) oder 200 ml Phosphatpuffer (pH 6,8) verwendet.

Die HPLC-Bestimmung erfolgte mit einem System der Firma Waters (Eschborn, Deutschland), das aus einem Pumpsystem 515, einem Autosampler 717 plus sowie einem UV-Detektor 486 besteht. Die Auswertung erfolgte mit der Waters Millennium 32 Chromatography Manager Software (Waters, Eschborn, Deutschland). Als stationäre Phase wurde eine RP-Säule Grom Hypersil ODS, 5 µm, 250 x 4 mm (Grom, Herrenberg, Deutschland) verwendet. Die mobile Phase bestand zu gleichen Teilen aus Acetonitril und einer wässrigen Pufferlösung<sup>2</sup>.

### 3.2.9.2 Konduktometrische Freisetzungsuntersuchung

Die Ambroxol HCl-haltigen Formulierungen wurden in einem an den Seiten verschlossenen Dialyseschlauch (MWCO: 6-8 kDa) oder direkt in 200 ml destilliertes Wasser gegeben. Während der Messung wurde mit einem Magnetrührer bei mittlerer Geschwindigkeit gerührt. Die Leitfähigkeit wurde mit einem inoLab Cond 730 (WTW, Weilheim, Deutschland) gemessen. Als Messzelle diente eine TetraCon 325 Standard Zelle (WTW, Weilheim, Deutschland). Die Zellkonstante lag bei 0.475 cm<sup>-1</sup> und der Faktor für die lineare Temperaturkorrektur auf 20 °C betrug 2.000 %/K. Die konduktometrischen Messungen wurden im Klimaraum bei 20 °C durchgeführt. Um die gemessene Leitfähigkeit in die freigesetzte Menge Ambroxol umrechnen zu können, wurde zuvor eine Kalibrierung durchgeführt, die folgenden Zusammenhang ergab:

$$\text{Konzentration} \left[ \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right] = 4,495 \left[ \frac{\mu\text{g} \cdot \text{cm}}{\text{ml} \cdot \mu\text{S}} \right] \cdot \text{Leitfähigkeit} \left[ \frac{\mu\text{S}}{\text{cm}} \right] + 0,338 \left[ \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right]$$

Der Korrelationskoeffizient der Kalibriergerade lag bei R<sup>2</sup>=0,9999.

<sup>2</sup> Wässrige Lösung: 1,32 g Ammoniummonohydrogenphosphat wurden in 900 ml Wasser gelöst. Die Lösung wurde mit Phosphorsäure 85 % auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt und mit Wasser auf 1000 ml verdünnt.

### **3.2.10 Bestimmung der Geschwindigkeit des pH-Wertausgleichs über eine Dialysemembran**

In der in Abschnitt 3.2.9.1 beschriebenen Freisetzungsmethode wird die Formulierung in einem Dialyseschlauch in das Freisetzungsmedium gegeben. Die hier erläuterte Methode soll die Abschätzung ermöglichen, wie schnell sich der pH-Wert der Rezeptur im Dialyseschlauch an den des Freisetzungsmediums anpasst.

Als Indikator für die pH-Wertänderung im Dialyseschlauch wurde Bromkresolgrün verwendet. Sein Umschlagsbereich liegt zwischen pH 3,8 und 5,4. Im Säuren ergibt sich eine gelbe Lösung, im Neutralen eine blaue.

3 ml einer neutralen Bromkresolgrünlösung wurden wie in Abschnitt 3.2.9.1 beschrieben in einem Dialyseschlauch verschlossen. Der Dialyseschlauch wurde in eine 0,1 M Salzsäurelösung gegeben und die Zeit bis zum Farbumschlag von blau nach gelb gemessen.

## **3.3 Neu entwickelte Methoden**

### **3.3.1 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung bei öliger Außenphase**

Zur Partikelgrößenbestimmung von Emulsionen stehen mehrere Standardmethoden zur Verfügung. Sie basieren auf Laserlichtbeugung oder Laserlichtstreuung. Die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der Wassertropfen in den verwendeten primären W/O-Emulsionen ist durch Standardmethoden nicht möglich, da diese eine starke Verdünnung der Emulsionen vor der Messung voraussetzen. Die zu untersuchenden W/O-Emulsionen sind aber in hoher Verdünnung weder in organischen Lösungsmitteln noch in ihrer eigenen Ölphase stabil. Daher wurde ein optisches Verfahren entwickelt, das auf der Auswertung mikroskopischer Bilder der Emulsion basiert. Für die mikroskopische Untersuchung muss die Emulsion praktisch nicht verdünnt werden.

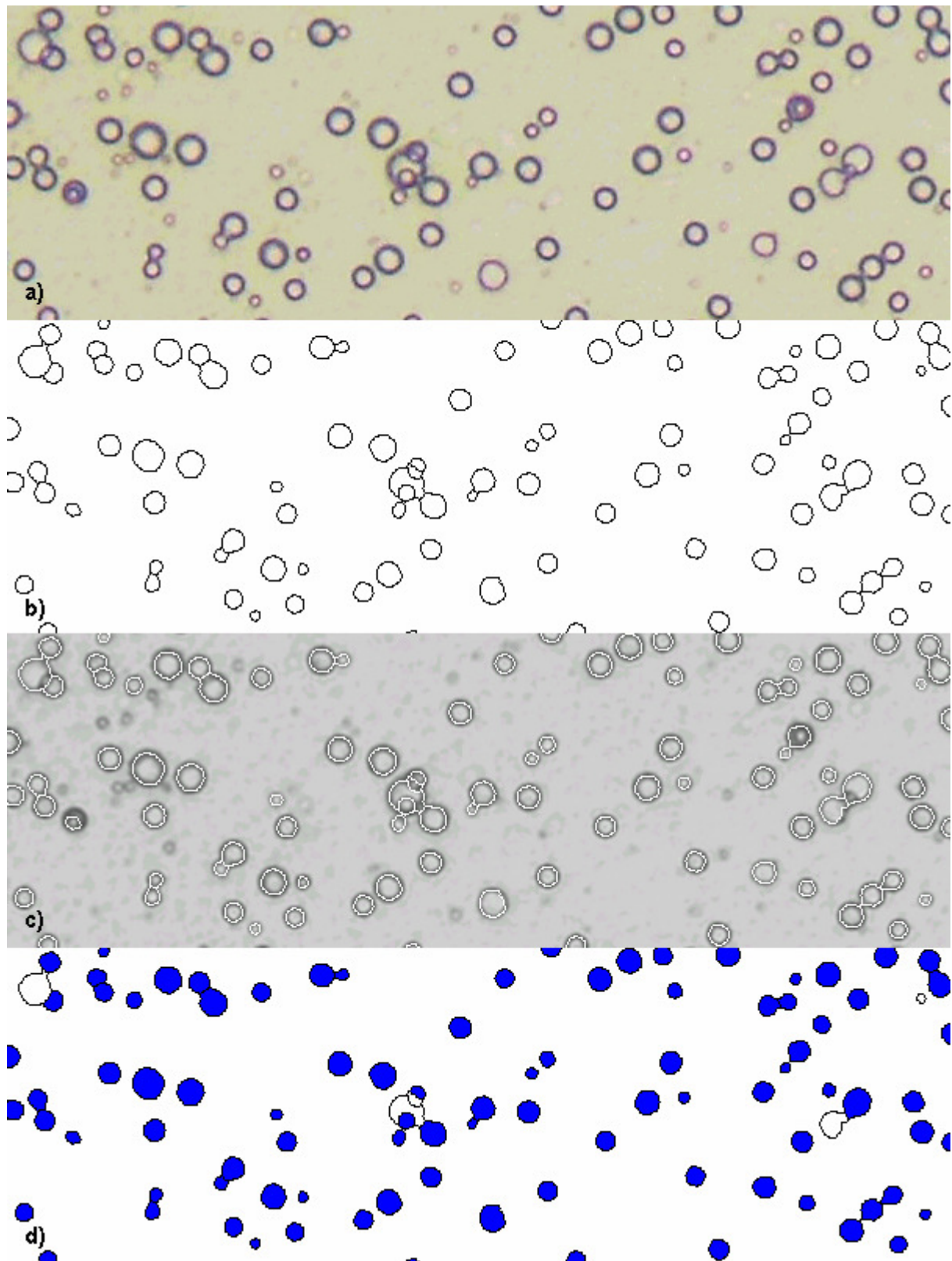


Abb. 3.1: Mikroskopische Teilchenanalyse: a) Mikroskopisches Bild einer W/O-Emulsion b) Der Filter „Trenner“ reduziert dunkle Linien auf eine ein Pixel breite geschlossene Linie. Der Rest wird weiß gefärbt. c) Zur Kontrolle werden a) und b) übereinander gelegt. d) Alle Flächen, die die Software als Kreis identifiziert, sind dunkel eingefärbt.

Der erste und für die Qualität entscheidende Schritt besteht im Fotografieren der Emulsion bei 10-facher ( $1 \text{ Pixel} = 0,34 \mu\text{m}$ ) oder 20-facher ( $1 \text{ Pixel} = 0,17 \mu\text{m}$ ) Vergrößerung. Die Vergrößerung sollte der Größe der Wassertropfen angepasst werden. Bei sehr kleinen Partikelgrößen, mit einer großen Menge an Tropfen im Bereich von 1 bis  $2 \mu\text{m}$ , ist die 20-fache Vergrößerung vorzuziehen. Die aufgetragene Menge und die Verdünnung werden so gewählt, dass zwar viele Wassertropfen auf jedem Bild zu sehen sind, es aber zu möglichst wenigen Überlappungen der Tropfen untereinander kommt. Abbildung 3.1a zeigt einen kleinen Ausschnitt eines mikroskopischen Bildes.

Durch Anwenden mehrerer Filter<sup>3</sup> der Software analySIS 3.1 (Soft Imaging System GmbH, Münster) entsteht Abbildung 3.1b. Die zentrale Rolle spielt der Filter „Trenner“, der dunkle Linien auf eine ein Pixel breite schwarze Linie reduziert. Den Rest des Bildes färbt dieser Filter weiß. Abbildung 3.1c dient der leichteren Kontrolle. Hier wird eines der Probleme dieses Verfahrens deutlich. Sehr kleine Tropfen, die nicht exakt in der fokussierten Ebene des Mikroskops liegen, haben nur eine schwach dunkle Umrandung und werden vom Filter nicht berücksichtigt.

Ein selbst geschriebenes Softwareprogramm arbeitet mit Abbildung 3.1b weiter. Zielsetzung dieses Programms ist es Flächen zu erkennen, die einen Tropfen repräsentieren und von diesen den Durchmesser zu bestimmen. Um dies zu erreichen, zählt das Programm von jeder einzelnen weißen Fläche den Flächeninhalt in Pixeln. Zu jeder Fläche wird zusätzlich ihr Umfang bestimmt. Dies geschieht durch die Bildung der Summe der die Fläche begrenzenden schwarzen Pixel. Unter der hypothetischen Annahme, dass es sich bei jeder Fläche um einen Kreis handelt, wird sowohl aus der Fläche als auch aus dem Umfang der Radius des flächengleichen bzw. des umfangsgleichen Kreises berechnet. Wenn es sich bei der untersuchten Fläche tatsächlich um einen Kreis handelt, sind beide Radien gleich groß. Das Programm nutzt den Quotienten aus dem Radius des flächengleichen Kreises und dem Radius des umfangsgleichen Kreises als Kriterium, ob eine Fläche als Kreis gewertet wird und damit einen Wassertropfen repräsentiert. Dieser Quotient ist immer kleiner als 1 und als untere Grenze wurde ein Wert von 0,82 gewählt. Das Programm wertet nur Flächen aus, die mindestens

---

<sup>3</sup> Filter: Farbauszug (grün); Tiefpass; Trenner (Grenztyp: Dunkel; Glätten: 6; Sigma: 4; Fein/Grob: 9)

zwölf Pixel enthalten. Dies führt zu einer theoretischen Auflösungsgrenze für den Durchmesser der Tropfen von  $0,7\ \mu\text{m}$  bei 20-facher Vergrößerung und von  $1,4\ \mu\text{m}$  bei 10-facher Vergrößerung. In Abbildung 3.1d sind alle Flächen, die das Programm als Tropfen wertet, eingefärbt. Hier wird das zweite Problem deutlich: Wassertropfen, die sich überlagern, können nicht als Kreis erkannt werden. Die Anzahl nicht erkannter Tropfen ist aber relativ gering im Verhältnis zur Anzahl richtig erkannter Tropfen, die für den gezeigten Ausschnitt bei ca. 90 liegt.

Zwei wichtige Fragestellungen sind, wie viele Proben einer Emulsion untersucht und wie viele Bilder einer Probe gemacht werden müssen, um ein statistisch sicheres Ergebnis zu bekommen.

Die erste Fragestellung ist im Prinzip wie bei allen Messungen mit Mehrfachbestimmungen zu beantworten. Es ist davon auszugehen, dass sich die genommenen Proben nur zufällig unterscheiden und dass die resultierenden Messergebnisse zufällig um den wahren Wert streuen. Da bei diesem Verfahren die Standardabweichung relativ gering ist, wurden aus jeder Emulsion jeweils drei Proben vermessen.

Die zweite Fragestellung ist schwieriger zu beantworten, da die Statistik hier nicht greift. Für eine auf der Statistik beruhende Entscheidung dürften sich die Bilder, die von einer Probe gemacht wurden, nur zufällig unterscheiden. Dies tun sie hier aber nicht, da die Probe als Tropfen auf den Objektträger aufgebracht wird und dann durch das Gewicht des Deckgläschens nach außen läuft und dabei immer flacher wird, bis die Schichtdicke so gering wird, dass Bilder gemacht werden können, ohne dass sich Wassertropfen in mehreren Schichten überlappen. Beim Auseinanderlaufen des Probentropfens bewegen sich aber nicht alle Wassertropfen gleich schnell, so dass später in den Außenbereichen des Deckgläschens eher kleinere Tropfen gefunden werden und in der Mitte eher größere.

Um eine Entscheidung für eine sinnvolle Anzahl von Bildern pro Probe zu treffen, wurde folgendermaßen vorgegangen. Von mehreren Emulsionen wurden von jeweils einer Probe zehn Bilder von zufällig auf dem Deckglas ausgesuchten Stellen gemacht. Dies entsprach ungefähr 20.000 ausgewerteten Tropfen pro Probe. Die Ergebnisse daraus wurden für diese Probe als wahrer Wert

angenommen. Im nächsten Schritt berechnete ein Computerprogramm alle möglichen Mittelwerte aus den Zweier-, Dreier-, Vierer- und Fünferkombinationen aus den Einzelergebnissen der zehn Bilder. Erst wenn fünf Bilder zur Berechnung der Mittelwerte für den  $D_{10}$ -,  $D_{50}$ - und  $D_{90}$ -Wert herangezogen wurden, lag die relative Standardabweichung dieser Werte unter 5 %. Im Folgenden wurden demnach für jede Probe fünf Bilder von zufällig gewählten Stellen des Deckgläschens gemacht.

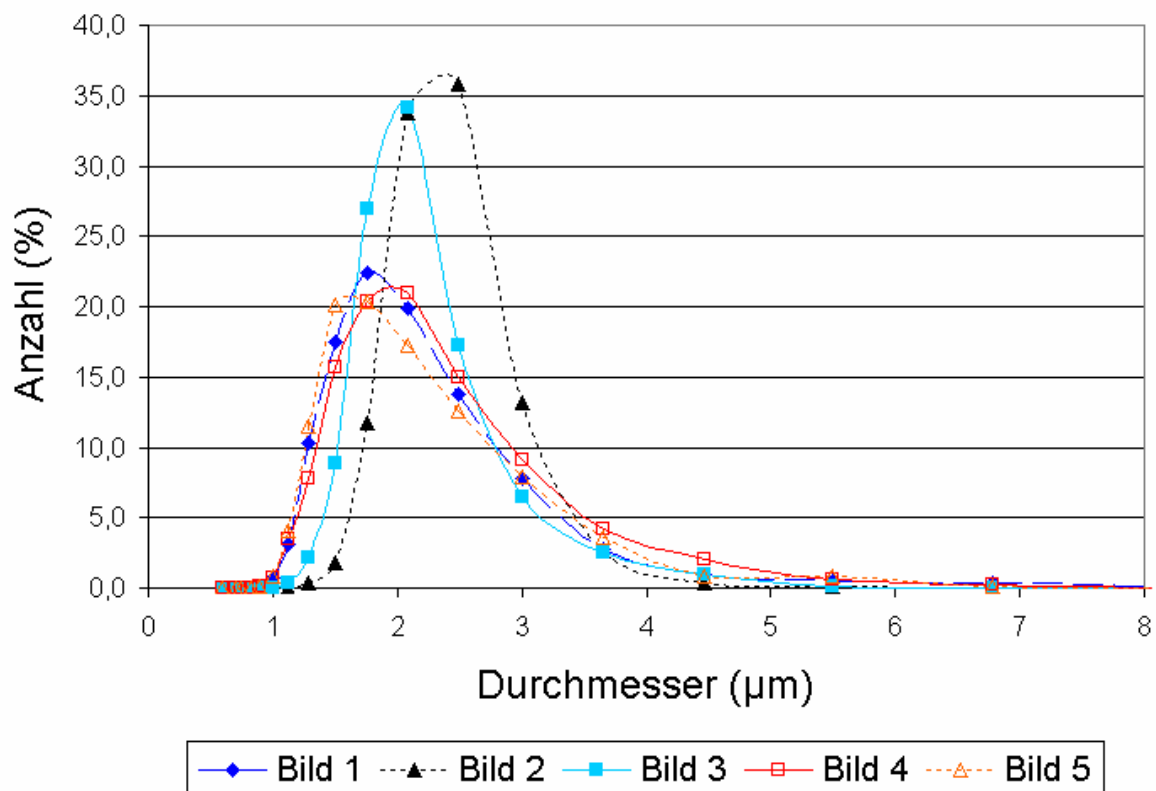


Abb. 3.2: Mit dem mikroskopischen Verfahren bestimmte Größenverteilungen von fünf Bildern einer Probe. Die Bilder wurden an möglichst unterschiedlichen Stellen des Deckgläschens aufgenommen.

Abbildung 3.2 zeigt die gemessenen Größenverteilungen von fünf Bildern einer Probe. Die großen Unterschiede zwischen den Verteilungen sind hier beabsichtigt, da unterschiedliche Bereiche unter dem Deckgläschen fotografiert wurden. Abbildung 3.3 zeigt die Größenverteilungen von drei Proben einer Emulsion. Jede einzelne Kurve berechnet sich aus der Summe der fünf Bilder zu jeder Probe. Hier sieht man, dass die Kurven nur noch geringfügig voneinander abweichen.

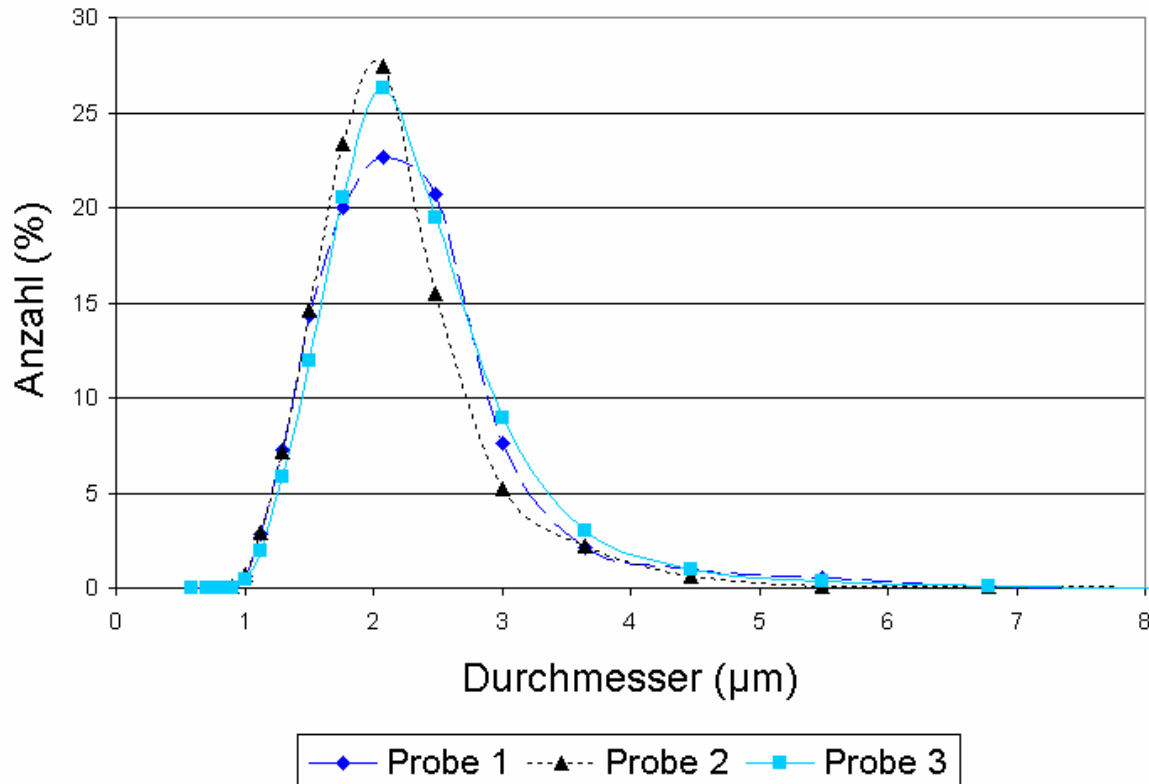


Abb. 3.3: Mit dem mikroskopischen Verfahren bestimmte Größenverteilungen von drei Proben einer Emulsion. Jeder Probe liegen fünf Bilder zu Grunde.

### 3.3.2 Bestimmung des Phasenverhältnisses der $W_1$ - zur $W_2$ -Phase

Das Phasenverhältnis einer multiplen Emulsion wird im Prinzip durch die Herstellung vorgegeben. Es wird festgelegt durch den eingearbeiteten Anteil von  $W_1$ -Phase in der Primäremulsion und den Anteil von Primäremulsion in der multiplen Emulsion. Die meisten Arbeiten beschränken sich nach der Herstellung darauf, den multiplen Charakter mikroskopisch nachzuweisen (Roy u. Gupta, 1993, Ghosh et al., 1997, Özer et al., 2000) oder die Einschussrate des verkapselten Wirkstoffes zu bestimmen (Jager-Lezer et al., 1997, Olivieri et al., 2003, Lindenstruth u. Müller, 2004). Die Bestimmung des tatsächlichen Phasenverhältnisses ermöglicht aber zu überprüfen, ob während des zweiten Herstellungsschrittes schon  $W_1$ -Phase durch Koaleszenz mit der  $W_2$ -Phase verloren geht, ob dies während der Lagerung geschieht oder ob die Emulsion in dieser Beziehung stabil ist.

Um das Phasenverhältnis bestimmen zu können, wird bei der Herstellung eine leitfähige Substanz – in dieser Arbeit entweder KCl oder Ambroxol HCl - beiden wässrigen Phasen in gleicher Konzentration zugesetzt. Bestimmt wird deren Konzentration in der  $W_2$ -Phase.

Bei einer konduktometrischen Messung direkt in der Emulsion setzen die Öltröpfchen die Leitfähigkeit herab. Hierbei spielen deren Größenverteilung und vor allem die Menge an gesamter disperser Phase, die sich aus der Ölphase und  $W_1$ -Phase zusammensetzt, eine Rolle. Um diesen Einfluss auszuschließen, wird die multiple Emulsion direkt vor der Messung 1 zu 20 mit isoosmotischer Glucoselösung verdünnt. Danach wird die Leitfähigkeit nur noch von der Menge an KCl in der verdünnten äußeren Phase beeinflusst.

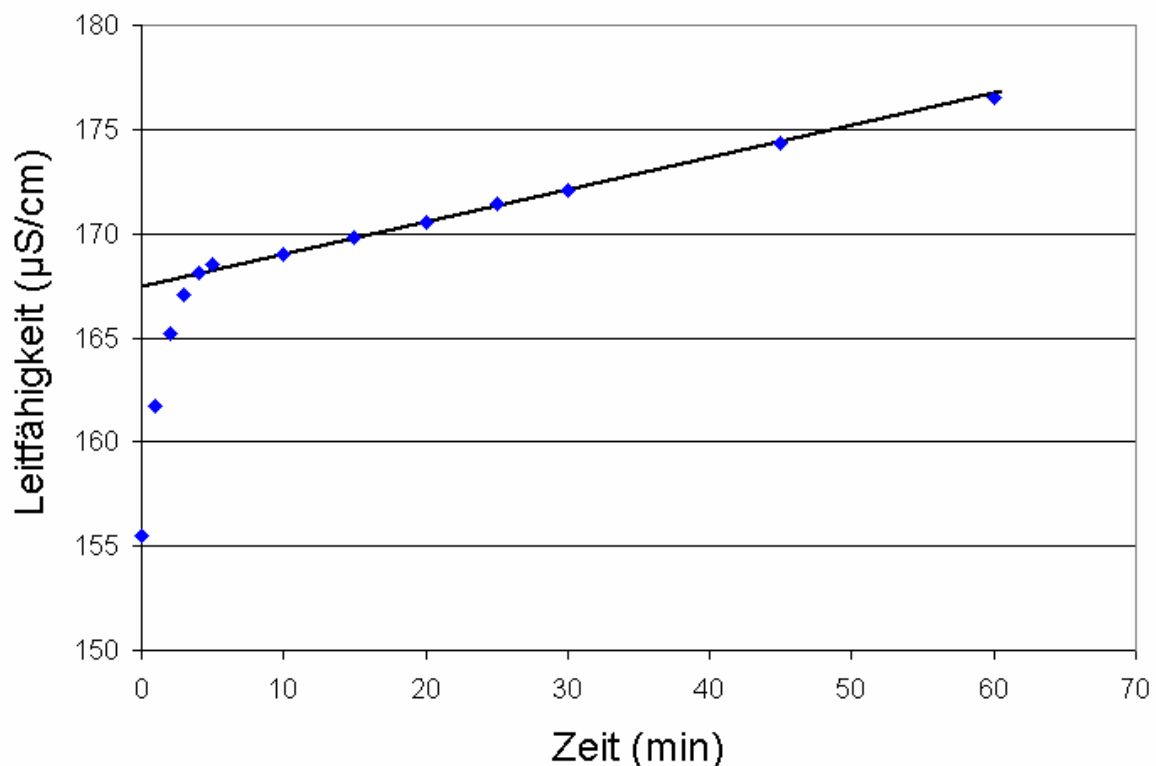


Abb. 3.4: Leitfähigkeit einer kurz vor der Messung 1 zu 20 verdünnten W/O/W-Emulsion, deren beiden wässrigen Phasen bei der Herstellung KCl zugesetzt wurde.

Abbildung 3.4 zeigt den Anstieg der gemessenen Leitfähigkeit während einer Stunde direkt nach Verdünnung. Damit sich die Emulsion gleichmäßig in der Glucoselösung verteilt, wird während der Messung mit einem Magnetrührer gerührt. Während der Homogenisierung am Anfang der Messung nimmt die Leitfähigkeit



schnell zu. Zwischen 5 und 30 min kommt es zu einem linearen Anstieg. Er wird durch die Diffusion des KCl aus der  $W_1$ -Phase in die verdünnte Außenphase verursacht. Durch Extrapolation kann die Leitfähigkeit, die sich bei sofortiger, gleichmäßiger Verteilung beim Start der Messung ergeben hätte, berechnet werden. Diese Leitfähigkeit repräsentiert die Menge an KCl in der  $W_2$ -Phase. Da die Konzentration von KCl in beiden wässrigen Phasen gleich hoch ist, ist das Verhältnis der KCl-Menge in der Außenphase zur KCl-Menge in der Innenphase gleich dem Verhältnis der Wasserphasen zueinander.

Die gemessene Leitfähigkeit wird durch Kalibrierung mit O/W-Emulsionen definierter Phasenverhältnisse in die KCl-Menge in der Außenphase umgerechnet.

## 4 Versuchsergebnisse und Diskussion

### 4.1 *Stabilitätsuntersuchungen*

Multiple Emulsionen unterliegen einer Vielzahl von Instabilitäten. Wie jede einfache Emulsion sind auch multiple Emulsionen thermodynamisch instabil.

Drei Koaleszenzvorgänge führen zu einer Verringerung der Grenzfläche und damit zu einem energetisch günstigeren System. Die Öltröpfchen und die inneren Wassertröpfchen können jeweils untereinander koaleszieren. Bei diesen beiden Formen der Koaleszenz bleibt der multiple Charakter erhalten. Er geht verloren, wenn es zum Verlust von innerer Wasserphase kommt. Für diesen Verlust an innerer Wasserphase sind in der Literatur mehrere Mechanismen beschrieben:

- Die Wassertröpfchen können an der Grenzfläche zwischen den Öltröpfchen und der äußeren Wasserphase mit dieser koaleszieren (Ficheux et al., 1998).
- Ist die äußere Wasserphase hypoosmotisch im Vergleich zur inneren Wasserphase und fungiert die Ölphase als semipermeable Membran, kommt es zu einem Einstrom von Wasser in die innere Phase und zu einem Anschwellen der inneren Wassertröpfchen bis hin zu einem Reißen der öligen Membran zwischen der inneren und der äußeren Wasserphase (Grossiord u. Seiller, 2001). Diese Instabilität konnte auch während dieser Arbeit nach Verdünnen einer W/O/W-Emulsion mit destilliertem Wasser unter dem Mikroskop beobachtet werden (Abbildung 4.1).
- Wenn die äußere Wasserphase hyperosmotisch ist, kommt es zu einem Verlust von innerer Wasserphase durch Diffusion des Wassers von innen nach außen.
- Bei Scherung der Emulsion kann es zur Zerteilung der Öltröpfchen kommen. An der Einschnürungsstelle ist dann ein Verlust von inneren Wassertröpfchen möglich. Diese Instabilität ist besonders während der Herstellung und der Anwendung von multiplen Emulsionen von Bedeutung (Muguet et al., 2001).

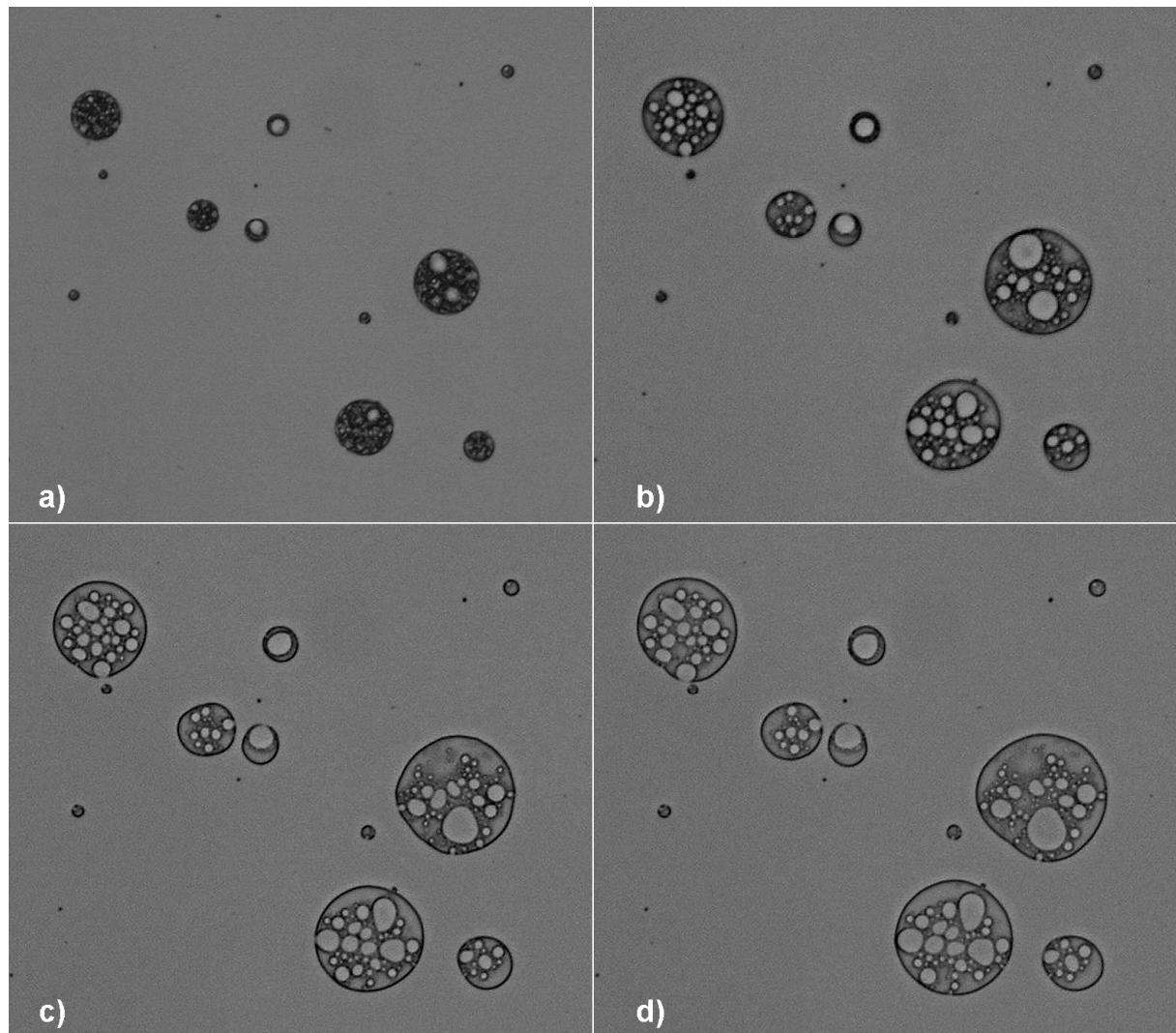


Abb. 4.1: Mikroskopische Beobachtung des Anschwellens der inneren Wassertröpfchen einer W/O/W-Emulsion nach hypoosmotischer Verdünnung. a) 1 min; b) 5 min; c) 10 min; d) 15 min nach der Verdünnung.

Eine weitere Instabilität von multiplen W/O/W-Emulsionen ist das Aufräumen der einfachen und multiplen Öltröpfchen. Durch Zentrifugieren kann dieser Vorgang beschleunigt und der zeitliche Verlauf einfach volumetrisch ermittelt werden.

Eine Untersuchungsmethode, die Aufschlüsse über die Stabilität von multiplen Emulsionen gibt, ist die Bestimmung rheologischer Parameter. Während der Lagerung ermöglicht sie Rückschlüsse auf Verluste an innerer Wasserphase. Wenn Wasser aus der inneren Wasserphase in die äußere übergeht, wird die äußere Wasserphase verdünnt und das Volumen der dispersen Phase nimmt ab. Beide Effekte resultieren in einer Verringerung der gemessenen Viskosität (Kita et al., 1977).

Genaue Aussagen über die Stabilität lassen sich aus einer Bestimmung der Partikelgrößenverteilung ableiten. Eine Koaleszenz der Öltröpfchen untereinander ist durch deren Vergrößerung leicht bestimmbar. Auch der Verlust an innerer Wasserphase sollte sich, wenn er alleine auftritt, durch eine Verringerung der Größe der Öltröpfchen zeigen lassen. Die Koaleszenz der inneren Wassertröpfchen untereinander in den Öltröpfchen ist in W/O/W-Emulsion mit hochkonzentrierten Primäremulsionen nicht direkt messbar. Einen Hinweis über die Stabilität der Wassertröpfchen ermöglicht die Vermessung der für die Herstellung verwendeten primären W/O-Emulsion.

Eine Methode, um die Stabilität einer multiplen Emulsion hinsichtlich ihres Phasenverhältnisses beurteilen zu können, wurde im vorigen Kapitel (siehe Abschnitt 3.3.2) vorgestellt. Da diese auf der Messung der Leitfähigkeit der äußeren Phase beruht, ist eine Voraussetzung für diese Methode, dass eine leitfähige Substanz in gleicher Konzentration zu beiden wässrigen Phasen während der Herstellung zugegeben wird.

#### **4.1.1 Stabilitätsuntersuchungen von mit dem Ultraturrax<sup>®</sup> hergestellten W/O/W-Emulsionen**

Die neue Methode zur Bestimmung des Phasenverhältnisses einer multiplen Emulsion sollte verwendet und die Ergebnisse dieser Messung mit den Ergebnissen aus Partikelgrößenmessungen und mit rheologischen Daten bestätigt werden.

Hierzu wurden mit dem Ultraturrax<sup>®</sup> drei multiple W/O/W-Emulsionen, wie in Abschnitt 3.2.2.1 beschrieben, hergestellt. Es wurde jeweils die gleiche Primäremulsion verwendet. Variiert wurde der Anteil der Primäremulsion in der multiplen Emulsion. Dadurch wurde ein Anteil der  $W_1$ -Phase am Gesamtwasser von 30, 40 bzw. 50 % erreicht. Um die Emulsionen für eine spätere konduktometrische Bestimmung des Phasenverhältnisses zugänglich zu machen, wurden beiden wässrigen Phasen 0,6 % KCl zugefügt. Die genaue Zusammensetzung der drei multiplen Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1 Zusammensetzung der Primäremulsion, der multiplen Emulsionen, die mit unterschiedlich hohen Anteilen der Primäremulsion hergestellt wurden, und der O/W-Vergleichsemulsionen (% m/m).

Formulierung	W <sub>1</sub> -Phase	Ölphase	W <sub>2</sub> -Phase
W/O-Primäremulsion	33 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser	67 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	
wow_30	18,7 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser	37,5 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	43,8 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser
wow_40	22 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser	45 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	33 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser
wow_50	25 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser	50 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	25 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser
ow_30		37,5 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	62,5 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser
ow_40		45 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	55 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser
ow_50		50 % Ölphase 2 % EC 98 % Octyldodecanol	50 % W-Phase 2,5 % MHPC 0,6 % KCl 96,9 % dest. Wasser

Die Emulsionen hatten nach der Herstellung ein homogenes Aussehen und zeigten auch über drei Monate Lagerung hinweg keine makroskopisch sichtbaren Instabilitäten. Abbildung 4.2 zeigt mikroskopische Aufnahmen der drei für die Aufnahmen verdünnten multiplen Emulsionen, auf der linken Seite einen Tag und auf der rechten Seite drei Monate nach der Herstellung. Der multiple Charakter der Emulsionen ist deutlich zu erkennen. In jedem größeren Öltropfen ist eine Vielzahl

von kleinen Wassertröpfchen dispergiert. Eine Quantifizierung der  $W_1$ -Phase in den Öltropfen ist aufgrund dieser Bilder jedoch nicht möglich. Selbst eine qualitative Aussage, ob während der Lagerung ein Verlust von  $W_1$ -Phase eingetreten ist, ist auf Grund der Bilder nicht sicher möglich.

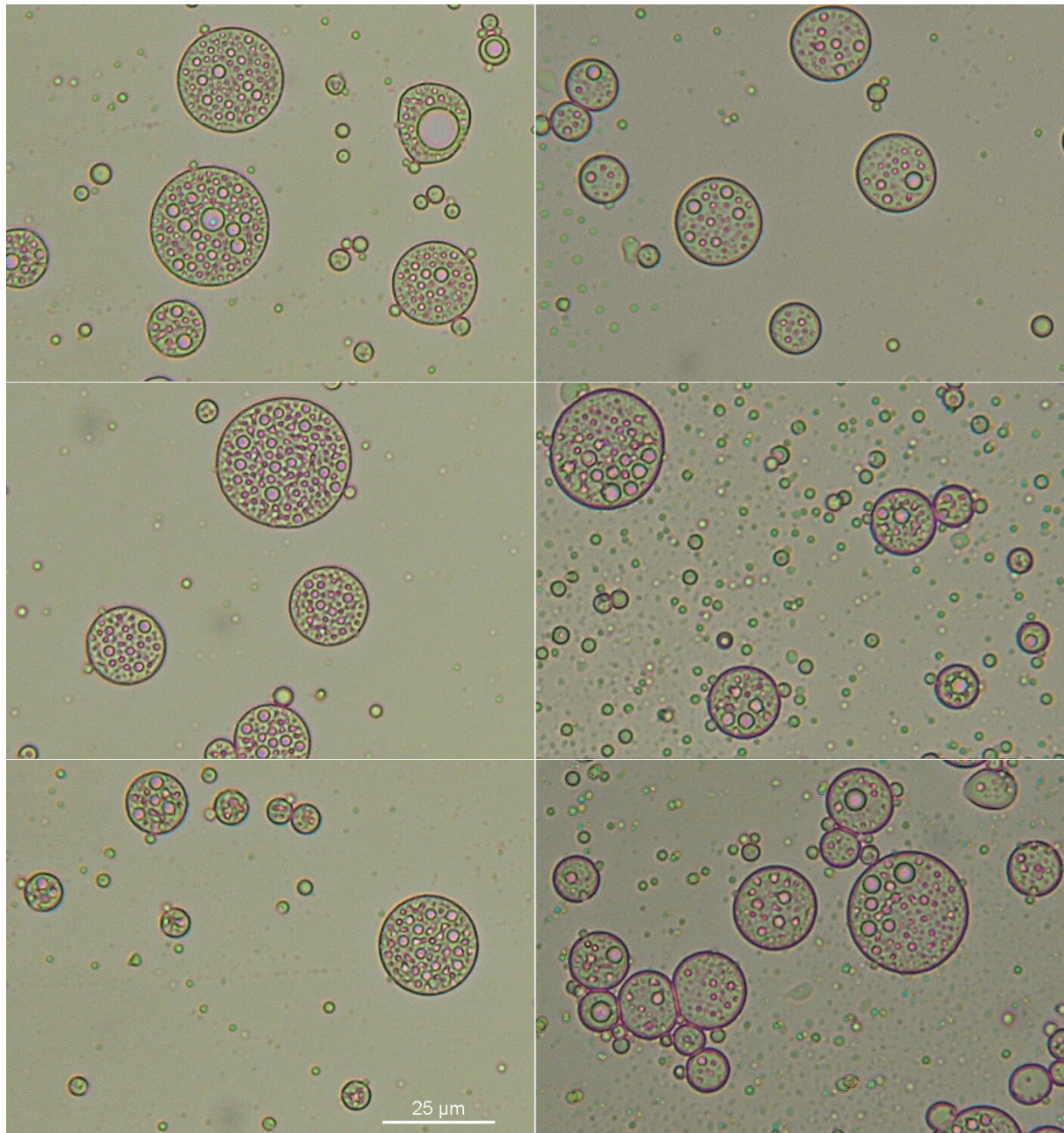


Abb. 4.2: Mikroskopische Aufnahmen von mit dem Ultraturrax® hergestellten W/O/W-Emulsionen (wow\_50, wow\_40, wow\_30, von oben nach unten), links einen Tag und rechts drei Monate nach der Herstellung.



#### 4.1.1.1 Bestimmung des Phasenverhältnisses

Mit der in Abschnitt 3.3.2 beschriebenen konduktometrischen Methode zur Bestimmung des Phasenverhältnisses wurden die drei Emulsionen einen Tag nach der Herstellung und über drei Monate Lagerung hinweg untersucht. Abbildung 4.3 zeigt den Anteil der  $W_1$ -Phase bezogen auf die Gesamtrezeptur. Direkt nach der Herstellung wäre ein Anteil von 18,7 % im Fall der wow\_30, 22 % im Fall der wow\_40 und 25 % im Fall der wow\_50 zu erwarten gewesen. Die Leitfähigkeitsmessung einen Tag nach der Herstellung zeigt aber einen deutlichen Verlust an  $W_1$ -Phase. Der Anteil an  $W_1$ -Phase liegt für alle drei Emulsionen nur noch zwischen 13 und 15 %.

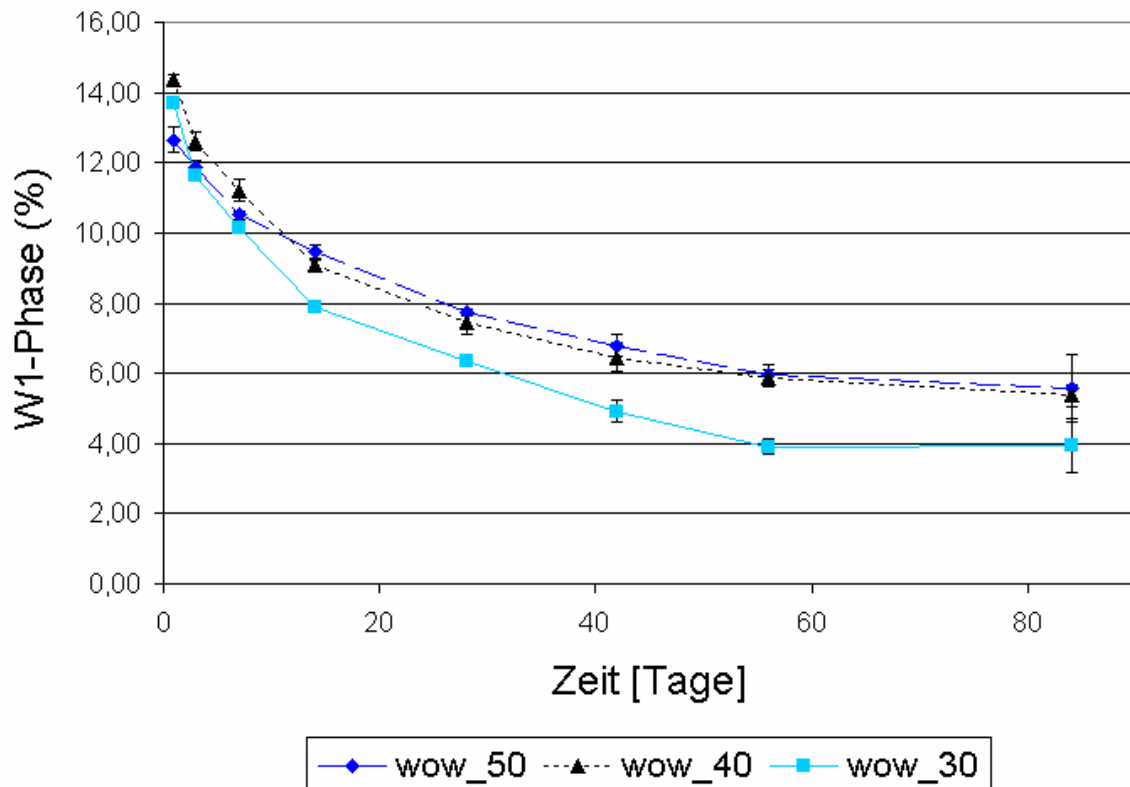


Abb. 4.3: Anteil der Innenphase im Verhältnis zur Gesamtrezeptur über drei Monate Lagerung. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

In Abbildung 4.4 ist der Anteil an  $W_1$ -Phase bezogen auf die Ölphase gegen die Zeit aufgetragen. Diese Art der Darstellung ist deshalb interessant, weil alle drei Emulsionen, da sie mit derselben Primäremulsion hergestellt wurden, denselben Anteil an Wasser in den Öltröpfen hätten haben sollen, nämlich 33 %. Die

Messwerte einen Tag nach der Herstellung zeigen deutlich einen Zusammenhang zwischen einem größeren Verlust an innerer Wasserphase und dem Versuch, mehr Primäremulsion in die äußere Wasserphase einzuarbeiten. Im Falle der Emulsion wow\_30 fällt der Wasseranteil nur auf 26,8 %, bei wow\_40 auf 24,4 % und bei wow\_50 sogar auf 20,2 %.

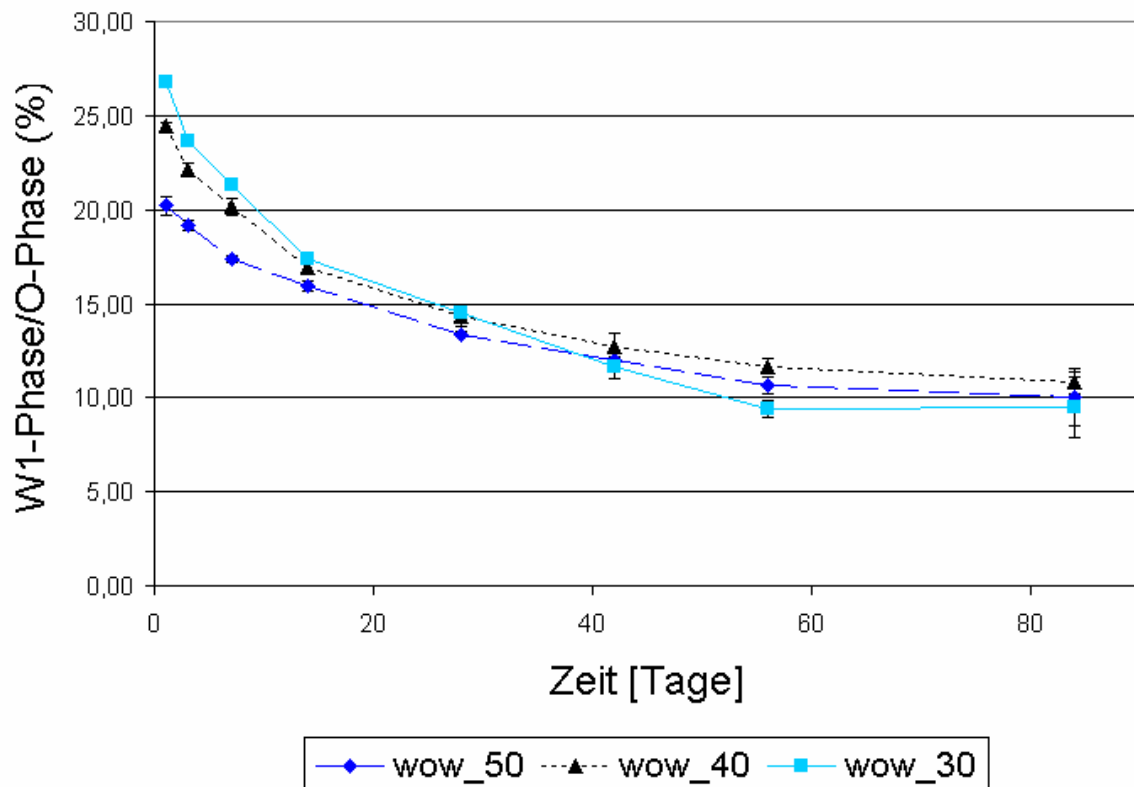


Abb. 4.4: Anteil der Innenphase im Verhältnis zur Ölphase über drei Monate Lagerung. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Dieses Ergebnis überraschte, da die Stabilisierung der inneren Wassertröpfchen in allen drei Fällen gleich war. Es stand jeweils dieselbe Menge an Ölphase mit derselben Konzentration an Polymeremulgator zur Verfügung. Die Unterschiede sind nur durch den steigenden Stress zu erklären, der auf die Öltropfen während des zweiten Herstellungsschrittes bei steigendem Anteil an disperser Phase einwirkt. Dieser Stress führt zu einer deutlichen Deformation der Öltropfen, die dadurch ein ungünstigeres Verhältnis zwischen Volumen und Oberfläche erlangen. Die inkorporierten Wassertröpfchen der  $W_1$ -Phase gelangen so näher an die Grenzfläche und können so leichter mit der äußeren Wasserphase koaleszieren. Um diesem Effekt entgegenzuwirken, müsste entweder der durch die Polymere



gebildete Grenzflächenfilm stabiler sein oder die Belastung für das System durch eine schonendere Herstellungsweise gesenkt werden.

Aus Abbildung 4.4 ist des Weiteren ersichtlich, dass die Koaleszenz der inneren Wassertröpfchen mit der äußeren Wasserphase sich während der Lagerung fortsetzt, auch ohne dass ein Scherstress ausgeübt wird. Die Geschwindigkeit des Verlustes an innerer Wasserphase nimmt mit der Zeit aber immer weiter ab und scheint nach drei Monaten und einem Anteil von ca. 10 % Wasser in den Öltröpfchen zum Erliegen zu kommen.

#### **4.1.1.2 Vergleich mit den Ergebnissen der Partikelgrößenbestimmung**

Die Partikelgrößenverteilung der Öltröpfchen wurde in den multiplen Emulsionen gemessen (siehe Abschnitt 3.2.4). Abbildung 4.5 stellt die gemessenen Verteilungen in der Art dar, dass die Unterseite der Balken den  $D_{10}$ -Wert anzeigt, die Linie in der Mitte gibt den  $D_{50}$ -Wert an und das obere Ende der Balken repräsentiert den  $D_{90}$ -Wert. Der  $D_{10}$ -Wert gibt eine Grenze in  $\mu\text{m}$  an, die besagt, dass 10 % der Öltröpfchen der Verteilung einen kleineren Durchmesser haben als dieser Wert. Der  $D_{50}$ -Wert entspricht analog einer Durchgangssumme von 50 %, der  $D_{90}$ -Wert einer von 90 %.

Die multiplen Emulsionen wow\_40 und wow\_30 verhalten sich in Bezug auf ihre Teilchengrößenverteilung während der Lagerung nahezu gleich. Ihre  $D_{10}$ - und  $D_{50}$ -Werte sinken leicht ab, während ihr  $D_{90}$ -Wert nahezu konstant bleibt. Eine Verkleinerung des  $D_{50}$ -Wertes ist bei Emulsionen eher selten zu beobachten, an dieser Stelle steht eben diese aber in Einklang mit den Ergebnisse aus der konduktometrischen Messung des Phasenverhältnisses. Die Verkleinerung der Öltröpfchen ist durch den Verlust an innerer Wasserphase durch Koaleszenz mit der äußeren Wasserphase leicht zu erklären. Bei der Emulsion wow\_50 ist anstatt eines Rückgangs des  $D_{50}$ -Wertes ein Anstieg zu beobachten, obwohl auch diese Emulsion während der Lagerung einen deutlichen Verlust an Innenphase zeigte. Allerdings ist hier im Gegensatz zu den beiden anderen Emulsionen auch ein Anstieg des  $D_{90}$ -Wertes zu beobachten. Dieser spricht sehr deutlich für eine Koaleszenz der Öltröpfchen untereinander. Es ist nun anzunehmen, dass diese Koaleszenz die Verkleinerung der Öltröpfchen durch den Verlust an innerer

Wasserphase überkompensiert und diese deshalb im Falle der Emulsion wow\_50 mit der Teilchengrößenmessung nicht mehr zu bestätigen ist.

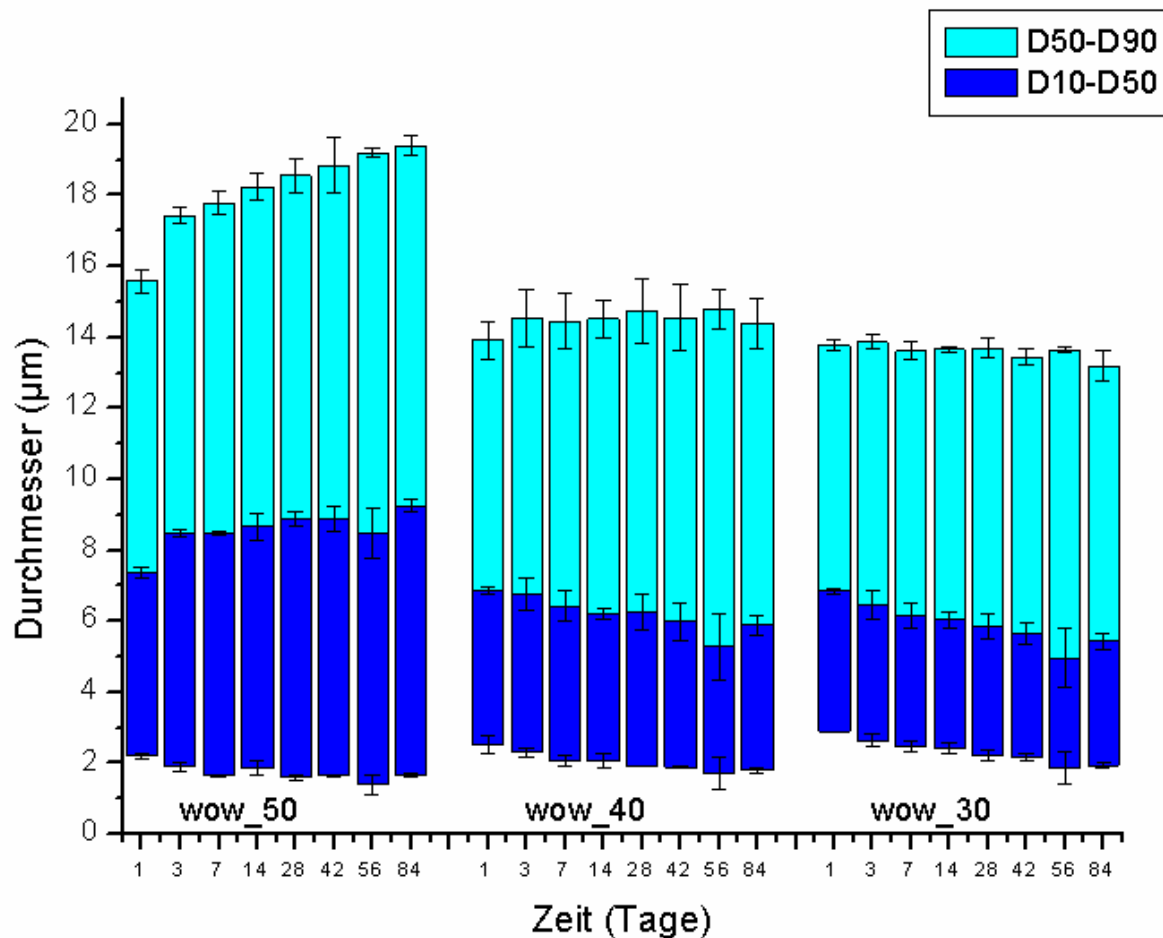


Abb. 4.5: Teilchengrößenverteilung der Öltröpfchen in den W/O/W-Emulsionen über drei Monate Lagerung. Angegeben ist die Volumenverteilung, die mit dem LS 320 gemessen wurde. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Um sicherzustellen, dass die beobachteten Veränderungen auf den multiplen Charakter der untersuchten Emulsionen zurückzuführen sind, wurden O/W-Emulsionen hergestellt, die dasselbe Verhältnis von Öl- zu Gesamtwasserphase hatten wie die jeweiligen multiplen Emulsionen. Die genaue Zusammensetzung zeigt Tabelle 1. Abbildung 4.6 ist zu entnehmen, dass die Größenverteilung der Öltröpfchen in den O/W-Emulsionen während der Lagerung weitgehend konstant bleibt. Nur bei der Emulsion ow\_50 ist ein leichter Anstieg der  $D_{50}$ - und  $D_{90}$ -Werte zu sehen, der auf eine Koaleszenz der Öltröpfchen hindeutet.

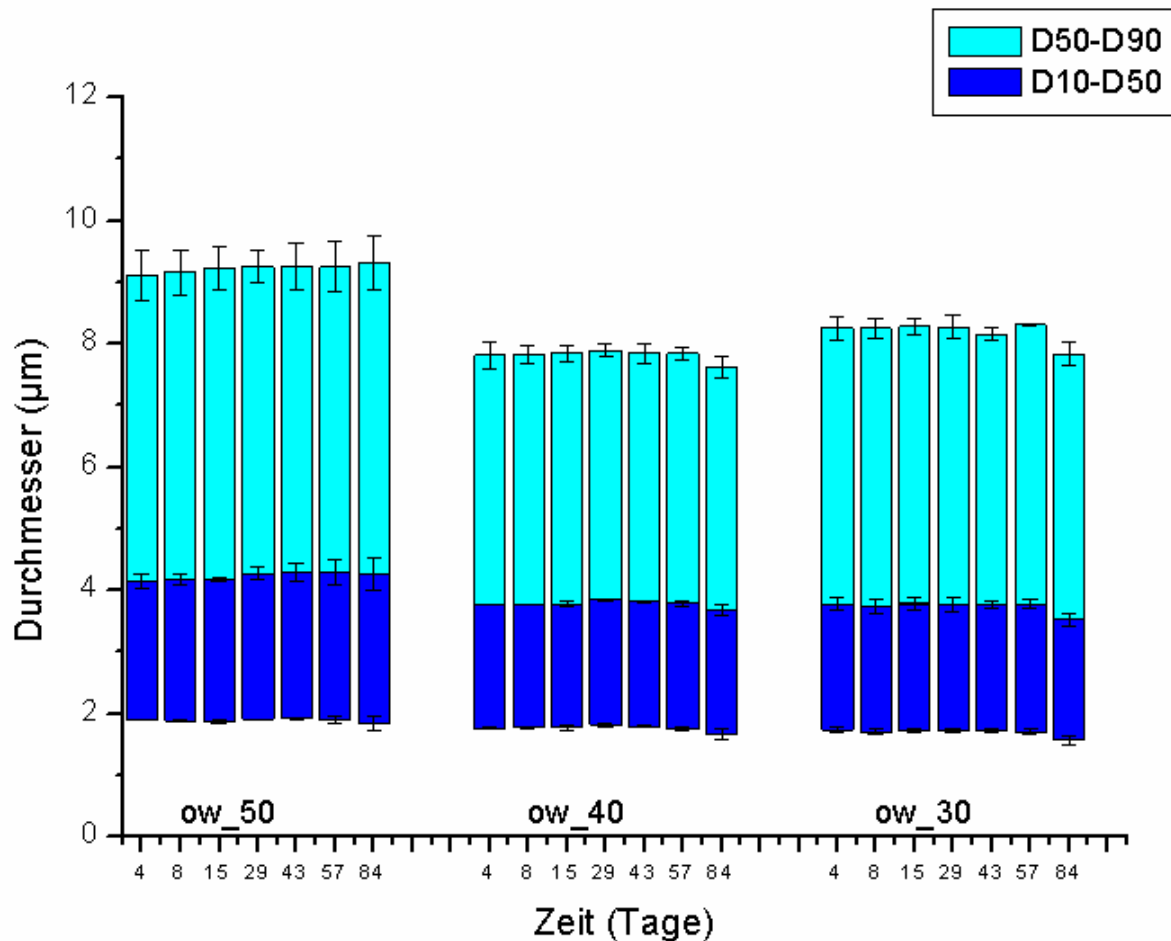


Abb. 4.6: Teilchengrößenverteilung der Öltröpfchen in den O/W-Emulsionen über drei Monate Lagerung. Angegeben ist die Volumenverteilung, die mit dem LS 320 gemessen wurde. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Die Verkleinerung der Öltröpfchen in den Emulsionen wow\_30 und wow\_40 ist offensichtlich auf ihren multiplen Charakter zurückzuführen und bestätigt die Ergebnisse der konduktometrischen Bestimmung des Phasenverhältnisses der betreffenden Emulsionen.

#### 4.1.1.3 Vergleich mit den Ergebnissen der rheologischen Untersuchung

Das rheologische Verhalten einer Emulsion hängt maßgeblich von den rheologischen Eigenschaften der äußeren Phase ab. Der Volumenanteil der inneren Phase hat jedoch einen entscheidenden Einfluss auf die Viskosität der Dispersion. Wenn die äußere Phase eine idealviskose Flüssigkeit ist und der Anteil der inneren Wasserphase gering ist, gibt es nach Einstein (1906 u. 1911) einen

linearen Zusammenhang zwischen der relativen Viskosität und dem Volumenanteil der dispersen Phase:

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} = 2,5 \cdot \phi + 1$$

$\eta_{rel}$ :	Relative Viskosität
$\eta$ :	Viskosität der Dispersion
$\eta_0$ :	Viskosität der Außenphase
$\phi$ :	Volumenanteil der dispergierten Phase

Im Falle der untersuchten multiplen Emulsionen ist weder die äußere Phase idealviskos – aufgrund des hohen Polymeranteils ist von einem pseudoplastischen Fließverhalten auszugehen – noch ist der Anteil an disperser Phase ausreichend klein. Trotzdem wird auch bei diesen Systemen die gemessene Viskosität mit geringer werdendem dispersen Anteil kleiner werden (Kita et al., 1977).

Die komplexe Viskosität der drei multiplen Emulsionen wurde mit einer Oszillationsmessung, wie in Abschnitt 3.2.5 beschrieben, während der Lagerung bestimmt. In Abbildung 4.7 ist zu sehen, dass die komplexe Viskosität kurz nach der Herstellung bei allen drei multiplen Emulsionen schnell absinkt. Die Abnahme verlangsamt sich dann während der Lagerung, bis sie nach drei Monaten einen fast konstanten Wert annimmt. Über den gesamten Zeitraum zeigen die Emulsionen eine gleichbleibende Abstufung der Viskosität zueinander. Die Emulsion wow\_50 mit dem höchsten Anteil an disperser Phase hat auch die höchste Viskosität, die Emulsion wow\_30 die geringste.

Dieses Verhalten entspricht den Erwartungen. Die Bestimmung des Phasenverhältnisses zeigte einen Verlust der  $W_1$ -Phase, der direkt nach der Herstellung deutlich ausgeprägt war und dann immer langsamer wurde. Wenn die  $W_1$ -Phase verloren geht, bedeutet dies eine Zunahme an  $W_2$ -Phase und damit insgesamt eine Verringerung an disperser Phase, die aus der Summe aus  $W_1$ - und Ölphase gebildet wird. Hieraus resultiert die beobachtete Abnahme der Viskosität.

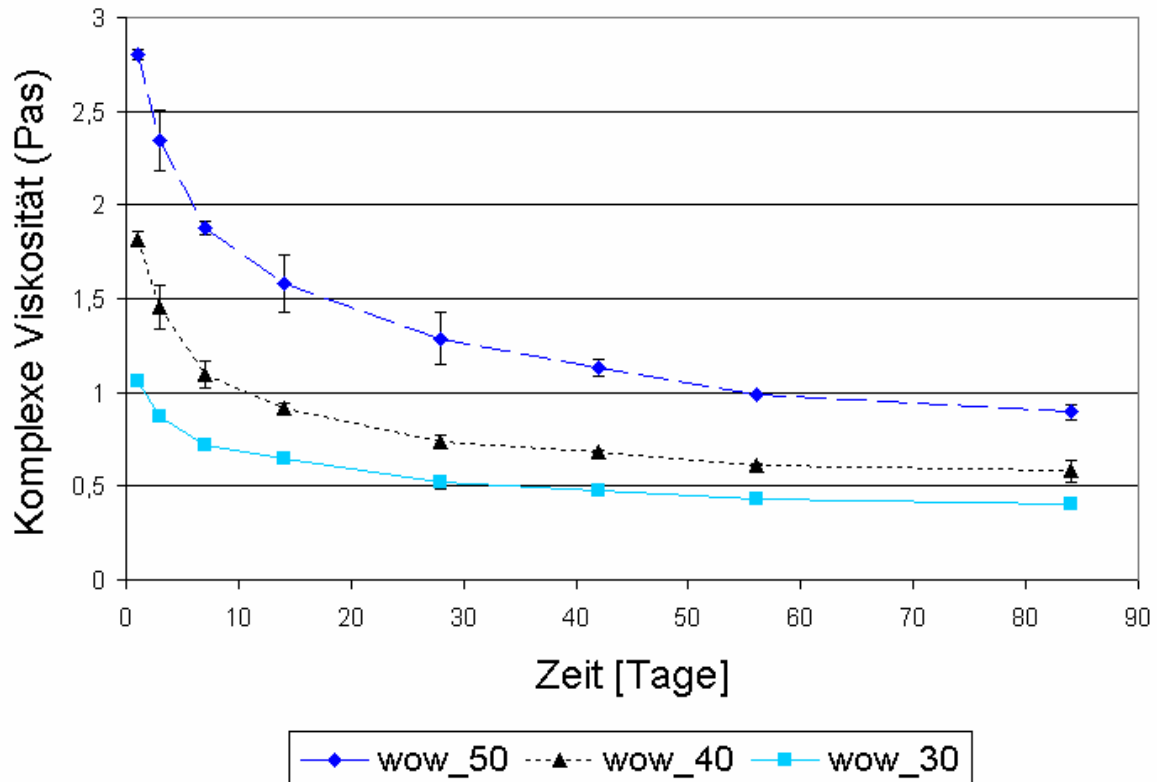


Abb. 4.7: Komplexe Viskosität der W/O/W-Emulsionen über drei Monate Lagerung. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Um zu veranschaulichen, wie gut sich die beschriebenen Ergebnisse aus den rheologischen Messungen mit der Bestimmung der Phasenverhältnisse decken, sind in Abbildung 4.8 die Ergebnisse der konduktometrischen Phasenverhältnisbestimmung noch einmal auf andere Weise dargestellt. Durch Addition des bestimmten Innenphasenanteils zu dem bei der Herstellung eingesetzten Ölanteil wurde die Gesamtmenge an disperser Phase zum jeweiligen Zeitpunkt berechnet und gegen die Zeit aufgetragen. Es ist nun eine gute Korrelation zwischen den beiden Messverfahren zu erkennen. Die unterschiedlich stark ausgeprägten Gefälle zum Beginn der Lagerung weisen jedoch darauf hin, dass die komplexe Viskosität nicht direkt in den Phasenanteil der dispersen Phase umgerechnet werden kann, da die Einsteinbeziehung hier nicht mehr gilt.

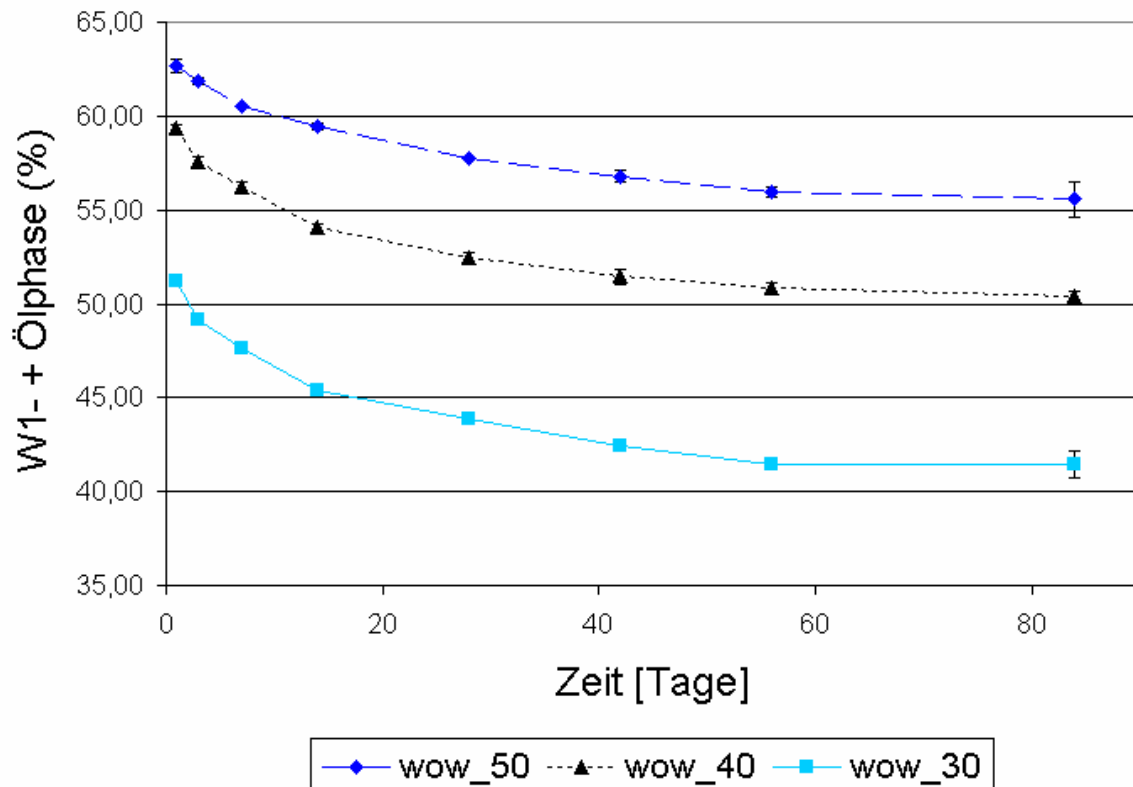


Abb. 4.8: Anteil der Summe aus Innenphase und Ölphase im Verhältnis zur Gesamtrezeptur über drei Monate Lagerung. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Die O/W-Vergleichsemulsionen wurden ebenfalls der rheologischen Bestimmung unterzogen, um zu zeigen, dass die zuvor beschriebenen Veränderungen der komplexen Viskosität auf den multiplen Charakter der Emulsionen zurückzuführen sind. Abbildung 4.9 zeigt die Ergebnisse dieser Messungen. Die O/W-Emulsionen haben über den gesamten Lagerzeitraum eine nahezu gleichbleibende komplexe Viskosität. Dies bestätigt die Stabilität dieser Zubereitungen, die schon aus der Stabilität der gemessenen Tröpfchengrößenverteilungen hervorging.

Auch hier ist der Zusammenhang zwischen der komplexen Viskosität und dem Anteil an disperser Phase deutlich zu erkennen. Im Vergleich zu den multiplen Emulsionen liegt die komplexe Viskosität im Verhältnis zum Anteil an disperser Phase aber höher. Dies spricht dafür, dass die multiplen Emulsionen während der Lagerung zwar Wasser aus der Innenphase verlieren, die MHPC aber in der Innenphase verbleibt. Im Ergebnis kommt es zu einer Erniedrigung der Viskosität nicht nur durch eine Verringerung an disperser Phase, sondern auch durch eine Verdünnung der Außenphase.

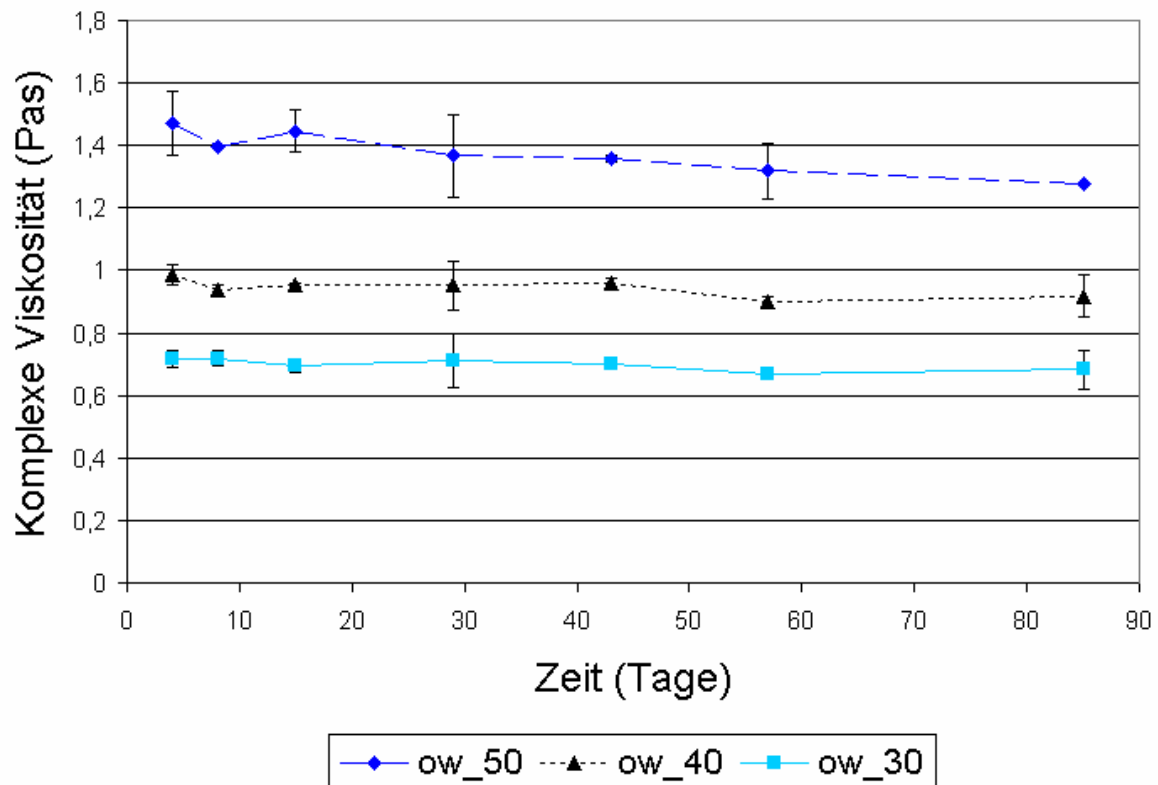


Abb. 4.9: Komplexe Viskosität der O/W-Emulsionen über drei Monate Lagerung. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

#### **4.1.2 Stabilitätsuntersuchungen von mit dem Unguator® hergestellten W/O/W-Emulsionen**

Durch die Untersuchungen an den Emulsionen, die mit dem Ultraturrax® hergestellt wurden, konnte zwar gezeigt werden, dass mit den zur Verfügung stehenden Methoden eine gute Charakterisierung der Stabilität der hergestellten Emulsionen möglich ist, die Ergebnisse selbst waren allerdings nicht zufriedenstellend. Das durch die Rezeptur eigentlich vorgegebene Phasenverhältnis stellte sich nach der Herstellung nicht dementsprechend ein, stattdessen kam es zu einem Verlust an innerer Wasserphase schon während der Herstellung, der sich während der Lagerung fortsetzte, wenngleich mit geringerer Geschwindigkeit. Außerdem war es nicht möglich, den Anteil an Wasser in der Primäremulsion über 33 % zu steigern. Dies wäre ein Ansatzpunkt gewesen, um insgesamt das Verhältnis von Wasser in der inneren Phase zum Wasser in der äußeren Phase zu steigern. Warum dies für die effektive Verkapselung von Wirkstoffen in der  $W_1$ -Phase von entscheidender Bedeutung ist, wird später im Abschnitt 4.2.1 beschrieben.

Daher wurde eine schonendere Herstellungsweise angewandt, um eine Verbesserung der Stabilität zu erzielen. Anstelle des Ultraturrax® wurde sowohl bei der Herstellung der W/O-Primäremulsionen als auch bei der Herstellung der multiplen Emulsionen ein Rührwerk verwendet. Hierbei tritt im Vergleich zum Rotor-Stator-Prinzip des Ultraturrax® eine geringere scherinduzierte Belastung auf, und die thermische Belastung fällt deutlich geringer aus, so dass eine Kühlung während der Herstellung nicht notwendig ist. Das Verhältnis, um das der dissipierte Wärmestrom bei der Herstellung mit einem Unguator® 2000 kleiner ist als der bei der Herstellung mit einem Ultraturrax®, wurde anhand der Herstellung einer Beispielemulsion, wie in Abschnitt 3.2.3 beschrieben, bestimmt. Bei annähernd adiabatischen Bedingungen während der Herstellung steigt die Temperatur der Zubereitung bei Verwendung des Ultraturrax® um 11,5 K/min, bei Verwendung des Ungutors® nur um 1,5 K/min. Daraus ergibt sich, dass der dissipierte Wärmestrom bei der Verwendung des Ultraturrax ca. 35-mal größer ist.

Es stellte sich heraus, dass es mit dem Unguator® möglich ist, Primäremulsionen mit einem hohen Innenphasenanteil herzustellen, wenn zusätzlich der Anteil der



Ethylcellulose in der Ölphase auf 6 % gesteigert wurde. Die genaue Vorgehensweise bei der Herstellung ist in Abschnitt 3.2.2.2 beschrieben.

Zunächst wurde eine Emulsionsreihe dahingehend untersucht, welchen Einfluss die Partikelgrößenverteilung der Primäremulsion auf die Stabilität des Systems hat. Um eine konduktometrische Bestimmung des Phasenverhältnisses zu ermöglichen, wurde den Emulsionen bei der Herstellung KCl als leitfähige Substanz zu beiden wässrigen Phasen zugesetzt. Zunächst wurde eine Primäremulsion mit 67 % Innenphasenanteil hergestellt. Nach der Herstellung wurden die Primäremulsionen ein weiteres Mal bei unterschiedlichen Rührgeschwindigkeiten homogenisiert. Die Emulsion wo\_RG2 bei Stufe 2, wo\_RG5 bei Stufe 5 und wo\_RG9 bei Stufe 9<sup>4</sup>. Im zweiten Herstellungsschritt wurde mit allen drei Emulsionen gleich verfahren. In die W<sub>2</sub>-Phase wurden bei Stufe 2 60 % Primäremulsion eingearbeitet, so dass sich nominell ein Phasenverhältnis von 40/20/40 ergibt. Die genaue Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2 Zusammensetzung der Primäremulsionen, die mit unterschiedlichen Rührgeschwindigkeiten endhomogenisiert wurden, und der daraus hergestellten multiplen Emulsionen (% m/m).

Formulierung	W <sub>1</sub> -Phase	Ölphase	W <sub>2</sub> -Phase
wo_RG2	67 % W-Phase	33 % Ölphase	
wo_RG5	2,5 % MHPC	6 % EC	
wo_RG9	0,6 % KCl	92 %	
	96,9 % dest. Wasser	Octyldodecanol	
wow_RG2	40 % W-Phase	20 % Ölphase	40 % W-Phase
wow_RG5	2,5 % MHPC	6 % EC	2,5 % MHPC
wow_RG9	0,6 % KCl	92 %	0,6 % KCl
	96,9 % dest. Wasser	Octyldodecanol	96,9 % dest. Wasser

#### 4.1.2.1 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der W/O-Primäremulsion

Zunächst wurde überprüft, ob die Variation des letzten Herstellungsschrittes tatsächlich zu unterschiedlichen Größenverteilungen der Wassertröpfchen in der Primäremulsion führt. Da die Primäremulsionen weder in organischen Lösungsmitteln noch in ihrer eigenen Außenphase bei starken Verdünnungen eine

<sup>4</sup> Stufe 2: 970 min<sup>-1</sup>; Stufe 5: 1450 min<sup>-1</sup>; Stufe 9: 2100 min<sup>-1</sup>

für die Messung ausreichende Stabilität zeigten, wurde das in Abschnitt 3.3.1 beschriebene Verfahren für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung verwendet.

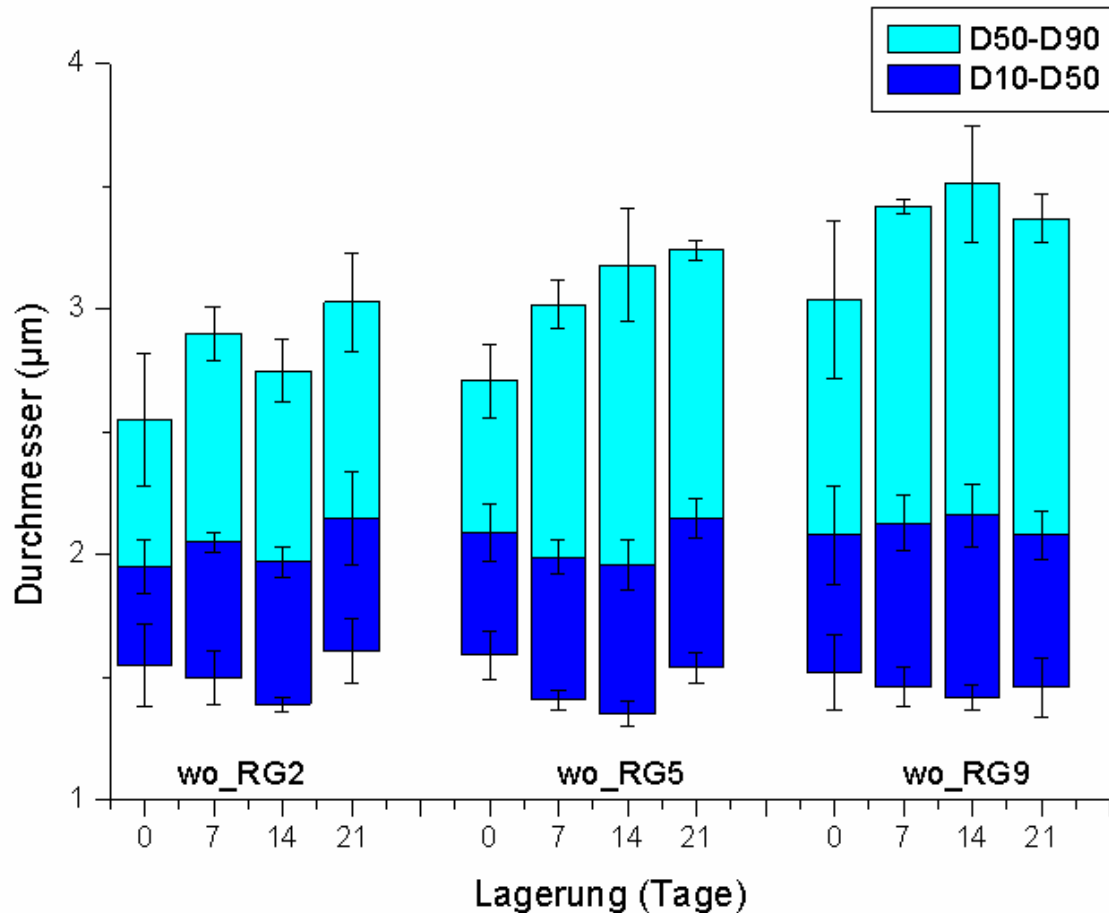


Abb. 4.10: Teilchengrößenverteilung der Wassertropfchen in den W/O-Primäremulsionen über drei Wochen Lagerung. Angegeben ist die Anzahlverteilung, die mit dem mikroskopischen Verfahren gemessen wurde. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

In Abbildung 4.10 sind die Größenverteilungen der Wassertropfchen in den drei Primäremulsionen direkt nach der Herstellung und während drei Wochen Lagerung dargestellt. Alle drei Emulsionen zeigen eine enge Verteilung bei kleinen Durchmessern. 80 % der Tropfen haben am Tag der Herstellung einen Durchmesser zwischen 1,5 und 3 µm. Eine Abstufung zwischen den Emulsionen ist aber deutlich zu erkennen. Entgegen den Erwartungen steigt mit zunehmender Schergeschwindigkeit die resultierende Tröpfchengröße an, und die Verteilung wird breiter. Bei allen drei Emulsionen kommt es während der Lagerung zu einer

Verbreiterung der Verteilung. Diese spricht für eine Koaleszenz der Wassertröpfchen.

#### **4.1.2.2 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der W/O/W-Emulsion**

Im nächsten Schritt wurde überprüft, wie sich die unterschiedlichen Größenverteilungen der Wassertröpfchen in den Primäremulsionen auf die sich im zweiten Herstellungsschritt einstellende Tröpfchengrößenverteilung der Öltröpfchen auswirken.

Die Partikelgrößenverteilung der Öltröpfchen in einer W/O/W-Emulsion ist mit der in Abschnitt 3.2.4 beschriebenen Standardmethode messbar. Die Tropfen befinden sich in einer wässrigen Außenphase und sind auch in hoher wässriger Verdünnung über den für die Messung benötigten Zeitraum stabil.

Abbildung 4.11 zeigt die Partikelgrößenverteilung der Öltröpfchen in den untersuchten multiplen Emulsionen. Die Öltröpfchen sind um ein Vielfaches größer als die Wassertröpfchen der Primäremulsion. 80 % der Öltröpfchen haben einen Durchmesser zwischen 10 und 130  $\mu\text{m}$ . Daher haben die relativ geringen Unterschiede in der Größenverteilung der Wassertröpfchen der Primäremulsion keinen Einfluss auf die während der Herstellung erzielte Größe der Öltröpfchen. In Abbildung 4.11 ist aber sehr deutlich zu erkennen, dass das Ausmaß der während der Lagerung stattfindenden Koaleszenz der Öltröpfchen abhängig ist von der verwendeten Primäremulsion. Je größer die Wassertröpfchen in der Primäremulsion sind, desto langsamer schreitet die Koaleszenz voran.

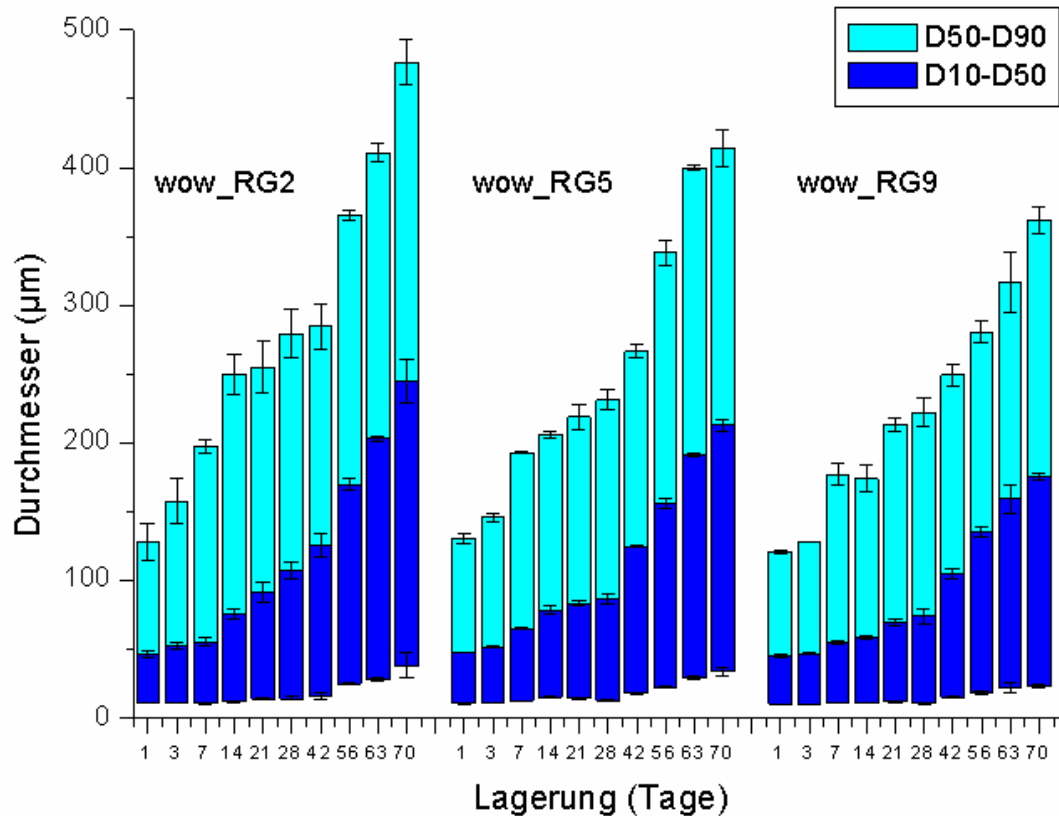


Abb. 4.11: Teilchengrößenverteilung der Öltröpfchen in den W/O/W-Emulsionen über 10 Wochen Lagerung. Angegeben ist die Volumenverteilung, die mit dem LS 320 gemessen wurde. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass bei gleicher Menge an Innenphase die Grenzfläche zwischen der  $W_1$ -Phase und der Ölphase mit größer werdenden Wassertropfchen abnimmt. Es wird also weniger Polymer benötigt, um diese Grenzfläche zu stabilisieren. Im Fall großer Wassertropfen bleibt demnach ein größerer Anteil der Ethylcellulose frei in der Ölphase gelöst. Dieser steht nun für die Stabilisierung der äußeren Grenzfläche zwischen der Ölphase und der  $W_2$ -Phase zur Verfügung, womit einer Koaleszenz entgegengewirkt wird.

Für eine höhere Stabilität der Öltröpfchen in der multiplen Emulsion ist es also sinnvoll, eine Primäremulsion mit einer zu größeren Durchmessern hin verschobenen Größenverteilung zu verwenden. In diesem Fall ist dies die Primäremulsion wo\_RG9, die im letzten Herstellungsschritt noch einmal bei der höchsten Stufe homogenisiert wurde.

#### 4.1.2.3 Bestimmung des Phasenverhältnisses

Die entscheidende Eigenschaft einer multiplen Emulsion ist ihr vesikulärer Charakter. Mit der in Abschnitt 3.3.2 beschriebenen Methode wurde untersucht, ob und wie sich die Unterschiede in der Herstellung der Primäremulsionen auf das Verhältnis von innerer zu äußerer Wasserphase in den multiplen Emulsionen auswirken. Durch die Teilchengrößenmessung wurde gezeigt, dass eine hohe Scherung zum Ende der Herstellung der Primäremulsion in breiteren Partikelgrößenverteilungen der inneren Wassertröpfchen resultiert. Diese wiederum bewirken eine bessere Stabilität gegen Koaleszenz der Öltröpfchen untereinander während der Lagerung.

In Abbildung 4.12 ist das Ergebnis der konduktometrischen Bestimmung des Phasenverhältnisses dargestellt. Aufgetragen ist der Anteil des Wassers in der Innenphase im Verhältnis zum Gesamtwasser der Rezeptur. Erkennbar ist, dass die zuvor beschriebenen Unterschiede keinen Einfluss auf das sich einstellende Phasenverhältnis haben. Aufgrund der Rezeptur sollte der Anteil an innerer Wasserphase am Gesamtwasser für alle drei Emulsionen bei 50 % liegen. Die Messung einen Tag nach der Herstellung zeigt, dass alle drei Emulsionen während der Herstellung ca. 10 % Wasser aus der  $W_1$ -Phase verlieren. Während sechs Wochen Lagerung bleibt das Phasenverhältnis dann aber konstant. Dies zeigt, dass die unterschiedlich schnelle Koaleszenz der Öltropfen untereinander keinen Einfluss auf die Menge an verkapseltem Wasser hat. Beim Vorgang der Koaleszenz geht demnach die innere Wasserphase nicht verloren, und die dadurch entstehenden größeren Öltropfen sind für die Verkapselung genauso effektiv wie die zuvor kleineren Tropfen. Die plötzliche Abnahme an Innenphase nach sechs Wochen Lagerung erwies sich als reproduzierbar. Warum sie bei den unterschiedlichen Emulsionen zum gleichen Zeitpunkt eintrat, ist momentan noch nicht erklärbar.

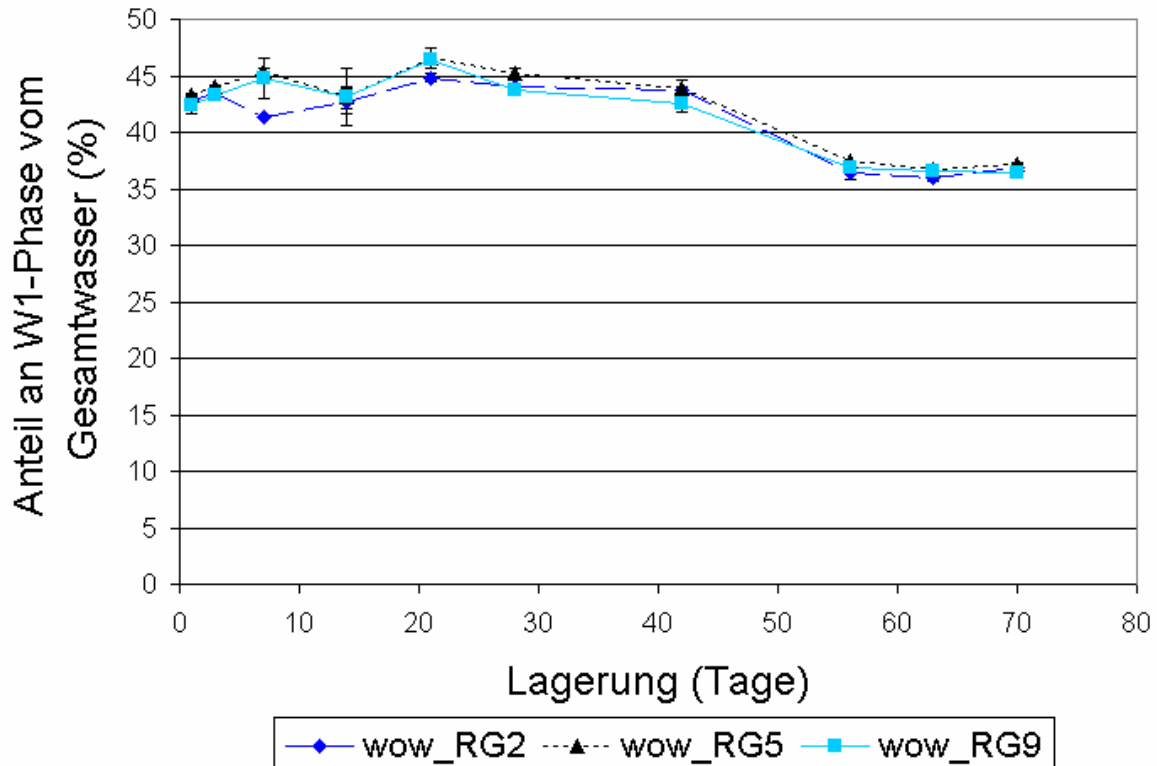


Abb. 4.12: Anteil der inneren Wasserphase im Verhältnis zum Gesamtwasser der Rezeptur über zehn Wochen Lagerung. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Für die Stabilität der mit dem Unguator<sup>®</sup> hergestellten multiplen Emulsionen lässt sich abschließend sagen, dass die schonendere Herstellung im Vergleich zur Herstellung mit dem Ultraturrax<sup>®</sup> entscheidende Vorteile brachte. Der Anteil des Wassers in der Primäremulsion konnte verdoppelt werden und während des zweiten Herstellungsschrittes ging deutlich weniger Innenphase verloren. Der Anteil der Innenphase in der Rezeptur konnte so deutlich gesteigert werden und blieb über sechs Wochen konstant. Dass es während der Lagerung zunächst nicht zu einem Verlust an innerer Wasserphase kam, bedeutet, dass nicht nur die Veränderung der Herstellungsweise einen Vorteil brachte, sondern auch die Erhöhung des Ethylcelluloseanteils in der Ölphase auf 6 %. Der Unguator<sup>®</sup> ermöglichte aber erst das Arbeiten mit dieser Ölphase, da sie für den Ultraturrax<sup>®</sup> zu hochviskos war. Kritisch zu sehen ist die beobachtete Koaleszenz der Wassertröpfchen in der Primäremulsion und die Koaleszenz der Öltropfen in den multiplen Emulsionen.

## **4.2      *Verkapselung von Wirkstoffen in der $W_1$ -Phase***

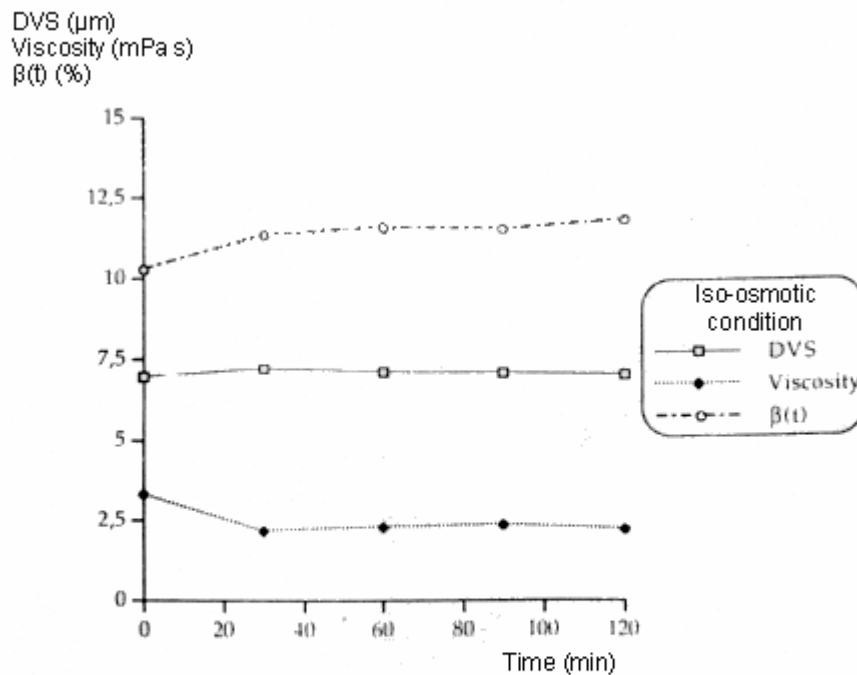
### **4.2.1      Freisetzungsmechanismen aus der inneren Wasserphase**

In der Literatur werden mehrere Mechanismen beschrieben, die zu einer Freisetzung des Wirkstoffs aus der  $W_1$ -Phase führen. Die drei Mechanismen, die auf dem Verlust von innerer Wasserphase basieren, wurden schon in Abschnitt 4.1 im Zusammenhang mit den möglichen Instabilitäten erwähnt. Demnach kann der Wirkstoff gemeinsam mit dem Wasser der Innenphase in die  $W_2$ -Phase durch thermodynamisch induzierte Koaleszenz, durch ein Anschwellen der inneren Wassertröpfchen bis zum Bersten der Ölmembran oder durch scherinduzierte Koaleszenz gelangen. Alle drei Mechanismen würden schlussendlich zu einem Verlust des multiplen Charakters der Emulsion führen. Ein Freisetzungsmechanismus, bei dem der multiple Charakter erhalten bleibt, ist die Freisetzung über inverse Mizellen. Wenn der verwendete W/O-Emulgator zur Bildung inverser Mizellen fähig ist, können sich an der Grenze zwischen  $W_1$ -Phase und Ölphase inverse Mizellen bilden, die den Wirkstoff im polaren Inneren solubilisieren. Diese Mizellen können durch die Ölphase diffundieren und den Wirkstoff an der Grenzfläche zwischen Ölphase und  $W_2$ -Phase in die äußere Wasserphase abgeben. Dieser Mechanismus wird aber für rein polymerstabilisierte Systeme ausgeschlossen (Garti u. Benichou, 2001b).

Ob es auch bei rein polymerstabilisierten Systemen zu einem Konzentrationsausgleich des hydrophilen Wirkstoffes zwischen den beiden wässrigen Phasen durch passive Diffusion des Wirkstoffs durch die Ölphase kommen kann, wird in der Literatur kontrovers diskutiert.

Jager-Lezer et al. (1997) untersuchten die Freisetzung von Magnesiumsulfat aus der inneren Wasserphase unter isoosmotischen und hypoosmotischen Bedingungen. Die Freisetzung unter hypoosmotischen Bedingungen wurde durch ein Anschwellen der inneren Wassertröpfchen bis zum Bersten der Ölmembran erklärt. Da es unter isoosmotischen Bedingungen zu keiner Freisetzung kam, wurde geschlussfolgert, dass es weder zu einer Freisetzung durch inverse Mizellen noch durch erleichterte Diffusion für eine so hydrophile Substanz kommen kann. Um dies

zu beweisen, bestimmten die Autoren den freigesetzten Anteil des Magnesiumsulfats  $\beta$  zum Zeitpunkt  $t$  (Abbildung 4.13).



**Fig. 1. Comparison of the change of the viscosity ( $SD \leq 5\%$ ), the Multiple droplet size ( $SD \leq 5\%$ ) and the electrolyte release ( $SD \leq 5\%$ ) versus time under iso-osmotic conditions for the formulation 1 with 10% lipophilic surfactant.**

Abb. 4.13: Aus Jager-Lezer et al. (1997):  $\beta$  gibt den freigesetzten Anteil des Magnesiumsulfats bei isoosmotischer Verdünnung an.

Zumindest die Schlussfolgerung der Autoren muss hier allerdings in Frage gestellt werden. Um eine Entscheidung zu treffen, ob eine Freisetzung – wenn auch sehr langsam – stattfindet, ist die Versuchsdauer mit zwei Stunden zu kurz gewählt. Für den Fall, dass sich der gering ausgeprägte Anstieg von  $\beta$  fortsetzt, wäre dies während der Lagerung durchaus relevant.

Grossiord und Seiller (2001) gehen in ihren Untersuchungen zur Freisetzung von Magnesiumsulfat aus W/O/W-Emulsionen mit dem Verweis auf die zuvor beschriebene Veröffentlichung davon aus, dass es weder zu einer Freisetzung durch inverse Mizellen noch durch Ficksche Diffusion kommen kann. Daher wird nur die Freisetzung des Magnesiumsulfats durch Reißen der Ölmembran



untersucht, wobei unterschieden wurde, ob dieses durch Anschwellen der Öltropfen oder scherinduziert verursacht wurde.

Ficksche Diffusion wurde hingegen zumindest für Säuren von Tedajo et al. (2001) nachgewiesen. Ziel der Untersuchung war es, die innere Wasserphase bei einem sauren pH-Wert zu halten, während die äußere Wasserphase im neutralen Bereich vorliegen sollte. Durch pH-Wert- und Leitfähigkeitsmessungen konnte die Diffusion der zugegebenen Säuren nachgewiesen werden.

Für Chloroquinphosphat konnten Vaziri und Warburton (1994) zeigen, dass die Freisetzung aus der inneren Wasserphase auf Diffusion und nicht auf die Instabilität des Systems zurückzuführen ist.

Auch Leadi Cole und Whateley (1997) gehen davon aus, dass die gemessene Freisetzung von Theophyllin aus der inneren Wasserphase der untersuchten W/O/W-Emulsionen auf Ficksche Diffusion durch die Ölphase zurückzuführen ist. Sie begründen dies mit der Beobachtung, dass die Freisetzung sich mit zunehmender Größe der Öltropfen verlangsamt.

Die Frage, ob Diffusion des Wirkstoffs stattfinden kann, ist besonders wichtig, da die gewünschte Retardierung nur mit dem Anteil des Wirkstoffes zu erzielen ist, der sich in der  $W_1$ -Phase befindet. Wenn eine Diffusion des Wirkstoffes möglich ist, kann ein Angleichen der Konzentrationen zwischen den beiden Wasserphasen während der Lagerung nicht verhindert werden. Der Beweis, dass Diffusion stattfindet, ist allerdings problematisch, da allein ein Nachweis von Wirkstoff in der  $W_2$ -Phase noch keine Aussage über den Freisetzungsmechanismus zulässt.

Um für das untersuchte multiple System den Nachweis zu führen, ob Diffusion stattfinden kann, wurden folgende Methoden entwickelt:

#### **4.2.1.1 Nachweis von Diffusion I**

Um zu zeigen, dass Diffusion durch die Ölphase des untersuchten Systems selbst für hydrophile Stoffe prinzipiell möglich ist, wurde als Beispielsubstanz KCl als möglichst hydrophiler Stoff ausgewählt. Die drei Phasen der multiplen Emulsion wurden in eine Schulman-Zelle (Voigt, 2000) gegeben (Abbildung 4.14). In dieser

Messzelle sind die beiden wässrigen Phasen durch eine Plexiglasscheibe voneinander getrennt. Ein Stoffaustausch ist ausschließlich über die die beiden W-Phasen überbrückende Ölphase möglich. Die beiden wässrigen Phasen werden durch einen Magnetrührer gerührt, die Ölphase durch einen Flügelrührer. Als W-Phasen wurden 2,5 %ige Lösungen von Hypromellose verwendet. Der  $W_1$ -Phase wurden zusätzlich 0,6 % KCl zugesetzt. In einem Fall wurden die beiden Wasserphasen mit reinem Eutanol<sup>®</sup> überbrückt, im anderen Fall enthielt die Ölphase 2 % Ethylcellulose. Die Messung der Leitfähigkeit findet in der  $W_2$ -Phase statt.

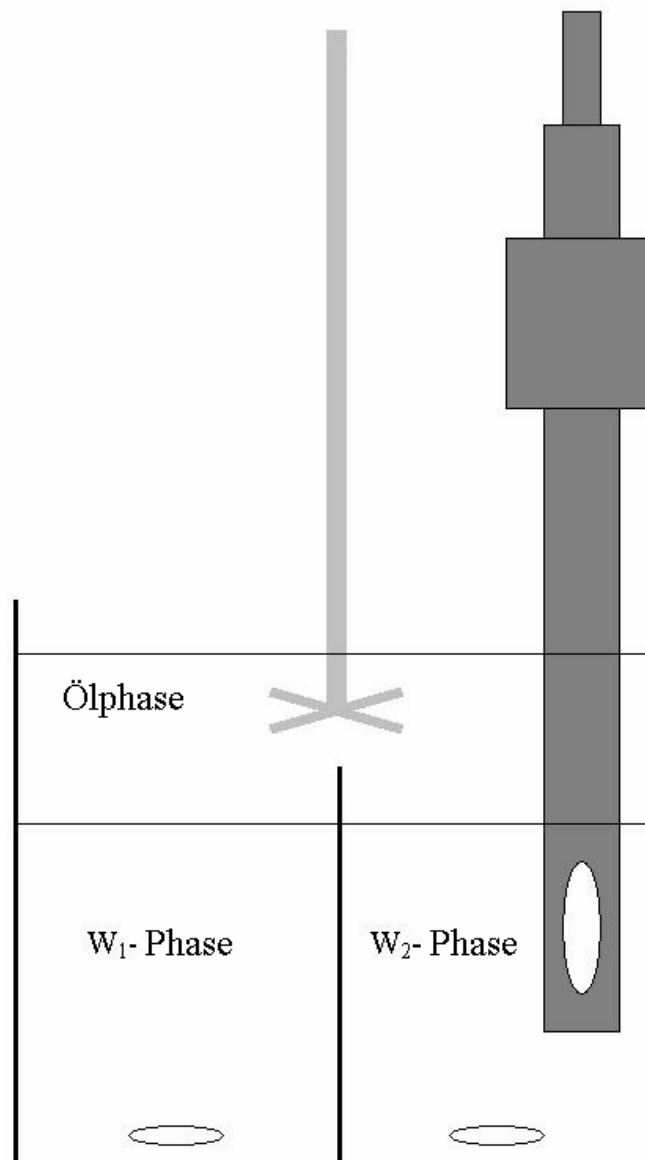


Abb. 4.14: Schulman-Zelle (Voigt, 2000): Der  $W_1$ -Phase wird eine leitfähige Substanz zugesetzt. Ein Anstieg der gemessenen Leitfähigkeit in der  $W_2$ -Phase lässt auf eine Diffusion der Substanz durch die Ölphase schließen.

Zu Beginn der Messung hat die  $W_2$ -Phase eine Leitfähigkeit von ca.  $70 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Durch den Zusatz von 0,6 % KCl zur  $W_1$ -Phase steigt die Leitfähigkeit dort auf  $9400 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Bei einem Konzentrationsausgleich zwischen den beiden wässrigen Phasen sollte sich in beiden Phasen eine Leitfähigkeit von ca.  $4700 \mu\text{S}/\text{cm}$  einstellen. Abbildung 4.15 zeigt den Verlauf der gemessenen Leitfähigkeit in der  $W_2$ -Phase. Am Anfang der Messung mit der Ethylcellulose-haltigen Ölphase steigt die Leitfähigkeit nur langsam an und geht dann nach ca. 18 Stunden in eine relativ lineare Steigung bis zum Abbruch der Messung nach fünf Tagen über. Die zu Beginn kleinere Steigung könnte dadurch erklärt werden, dass die Ölphase zunächst mit KCl gesättigt wird. Dass auch nach fünf Tagen der Flux konstant ist, obwohl sich zu diesem Zeitpunkt die KCl-Konzentrationen in den beiden W-Phasen schon geringfügig angenähert haben, liegt daran, dass zu diesem Zeitpunkt die Konzentration in der  $W_2$ -Phase noch deutlich unter 10 % der Konzentration in der  $W_1$ -Phase liegt. Es liegen also noch von Sink-Bedingungen vor.

Diese Messung zeigt deutlich, dass selbst eine extrem hydrophile Substanz wie KCl durch die Ölphase diffundieren kann, allerdings nur, wenn Ethylcellulose in der Ölphase anwesend ist. Die Messung ohne Ethylcellulose in der Ölphase zeigt nur zu Beginn einen leichten Anstieg der gemessenen Leitfähigkeit in der  $W_2$ -Phase, bei ca.  $85 \mu\text{S}/\text{cm}$  bleibt der Wert im weiteren Verlauf der Messung aber konstant.

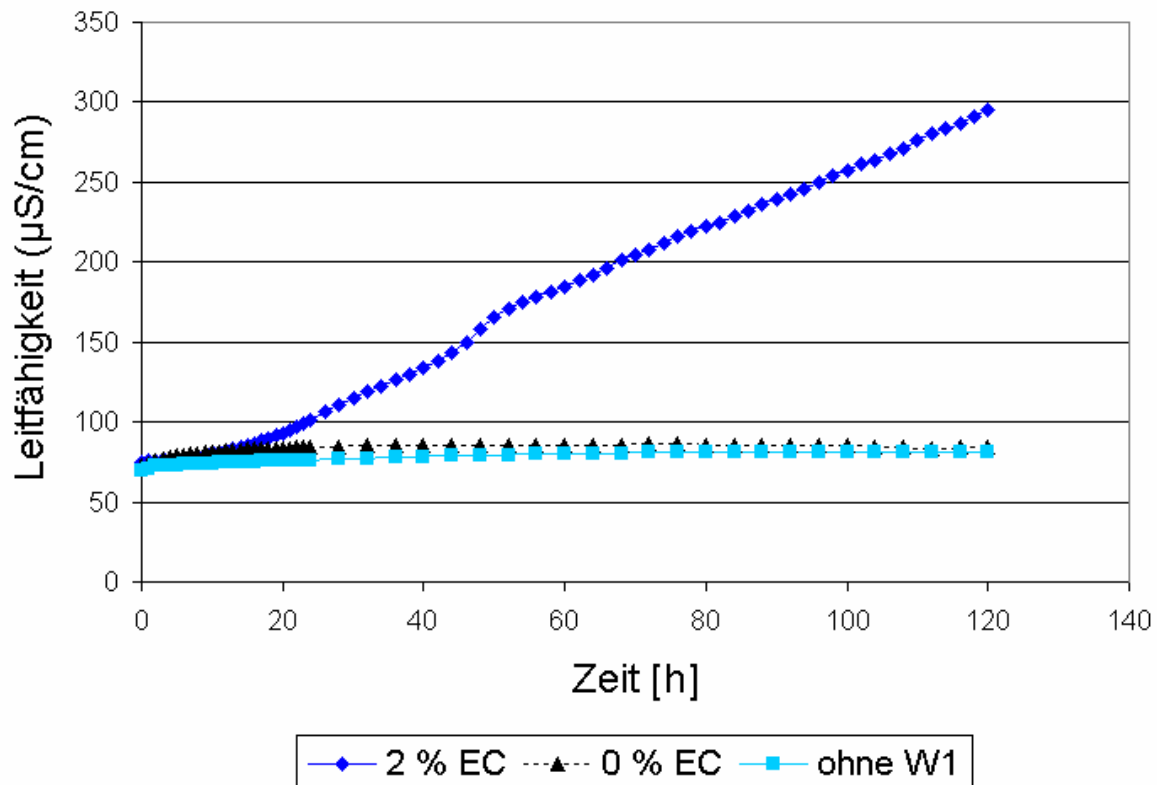


Abb. 4.15: Messung der Leitfähigkeit in der elektrolytarmen Phase einer Schulman-Zelle (Voigt, 2000). Bei den beiden Kurven „2 % EC“ und „0 % EC“ wurden die wässrigen Phasen mit Eutanol® mit und ohne gelöste Ethylcellulose überbrückt. Bei der Kurve „ohne W<sub>1</sub>“ wurde die W<sub>2</sub>-Phase mit Ethylcellulosehaltiger Ölphase überschichtet, ohne dass eine weitere Wasserphase auf der anderen Seite vorlag.

Um sicherzustellen, dass der Leitfähigkeitsanstieg in der W<sub>2</sub>-Phase nicht auf Verunreinigungen des Eutanol oder der Ethylcellulose zurückzuführen ist, wurde in einem dritten Versuch die W<sub>2</sub>-Phase mit der Ethylcellulosehaltigen Ölphase überschichtet, ohne dass auf der anderen Seite eine KCl-haltige Wasserphase durch die Ölphase mit der W<sub>2</sub>-Phase in Kontakt gebracht wurde. In Abbildung 4.15 ist zu sehen, dass auch hier der zu Beginn der Messung auftretende Anstieg der Leitfähigkeit nach kurzer Zeit zum Erliegen kommt.

Es ist vorstellbar, dass die Ethylcellulose teilhydratisiert im Eutanol® vorliegt und dass die Ionenpaare des KCl entlang der Ethylcellulosestränge durch die Ölphase diffundieren.

#### 4.2.1.2 Nachweis von Diffusion II

Im vorigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass KCl durch die Ethylcellulose-haltige Ölphase des Systems diffundieren kann und dass Ethylcellulose eindeutig die Geschwindigkeit dieser Diffusion steigert bzw. ermöglicht. Die Diffusion ist aber auch in Anwesenheit von Ethylcellulose relativ langsam; auch nach 120 Stunden ist das System von einem Angleichen der Konzentrationen in den beiden W-Phasen noch weit entfernt. Um abschätzen zu können, ob die Diffusion durch die Ölphase ein für die Praxis relevantes Ausmaß annimmt, wurde eine weitere Methode entwickelt, die Diffusion deutlich näher am späteren multiplen System nachweisen kann, nämlich in einer multiplen Emulsion selbst.

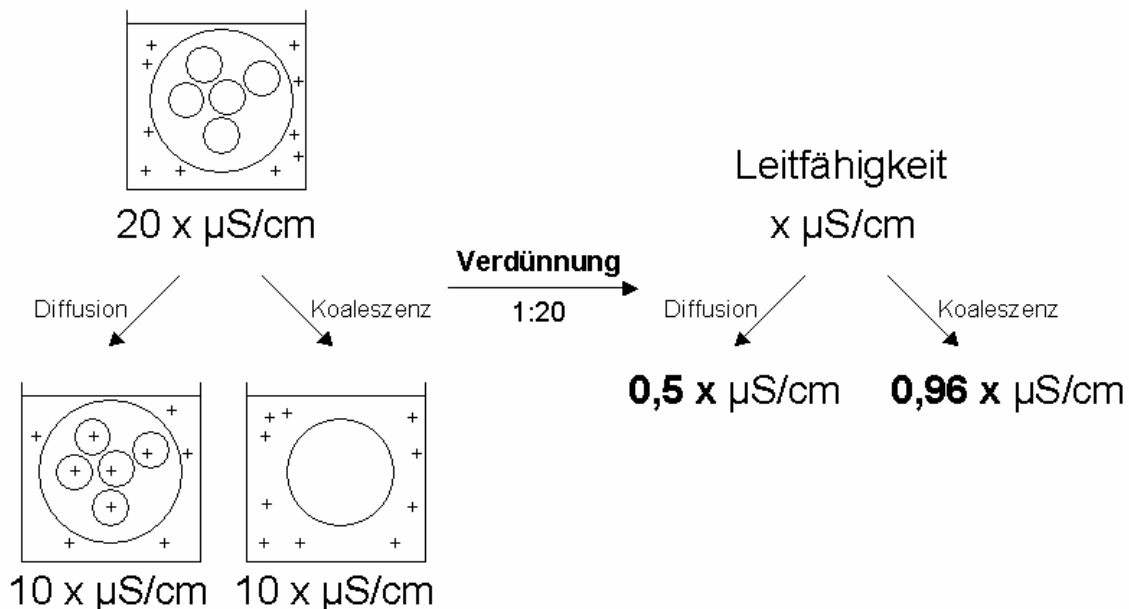


Abb. 4.16 Methode zum Nachweis von Diffusion in einer W/O/W-Emulsion.

Als möglichst hydrophiler Stoff wurde wieder KCl ausgewählt. Um zwischen Freisetzung durch Koaleszenz und Freisetzung durch Diffusion differenzieren zu können, wurde KCl nur der äußeren  $W_2$ -Phase zugesetzt. Eine Abnahme der **Stoffmenge** an KCl in der  $W_2$ -Phase ist ausschließlich durch die Diffusion von KCl durch die Ölphase in die innere  $W_1$ -Phase möglich. Die **Konzentration** an KCl in der  $W_2$ -Phase, die konduktometrisch gemessen werden kann, kann über zwei Wege sinken. Einerseits kann sie abnehmen durch eine Verringerung der KCl Stoffmenge in der Außenphase durch Diffusion und andererseits durch Zunahme

der Menge an Wasser in der Außenphase. Zu dieser kann es durch Koaleszenz der inneren Wassertropfchen mit der äußeren Grenzfläche kommen. Dieser Verdünnungseffekt wird vernachlässigbar klein, wenn vor der jeweiligen Messung die Emulsion und damit die Außenphase stark verdünnt wird. Für die Verdünnung wird isoosmotische Glucoselösung verwendet. Eine deutliche Abnahme der gemessenen Leitfähigkeit im Laufe der Lagerung ist dadurch nur noch durch den Vorgang der Diffusion zu erklären. Abbildung 4.16 veranschaulicht die beschriebene Methode.

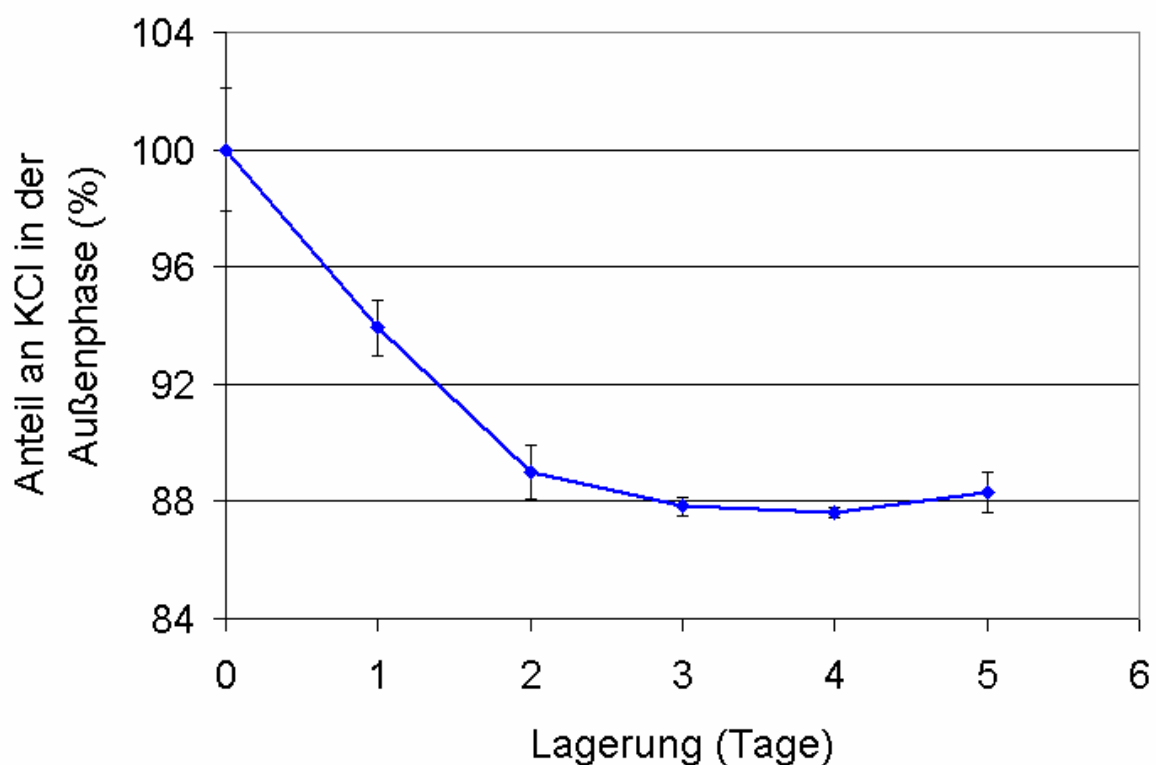


Abb. 4.17: Bestimmung des KCl-Anteils in der Außenphase einer W/O/W-Emulsion, der bei der Herstellung nur zur  $W_2$ -Phase KCl zugesetzt wurde, über fünf Tage.

Abbildung 4.17 zeigt den Verlust an KCl aus der  $W_2$ -Phase während fünf Tagen Lagerung. Bei der Herstellung wurde wie zuvor beschrieben nur der  $W_2$ -Phase KCl als leitfähige Substanz zugesetzt. Um den osmotischen Druck auszugleichen, wurde in der  $W_1$ -Phase ein entsprechender Anteil Mannitol gelöst, bei einem Phasenverhältnis von jeweils 40 %  $W_1$ - und  $W_2$ -Phase und 20 % Ölphase. Der Messwert direkt nach der Herstellung wurde gleich 100 % gesetzt, da es während der Herstellung theoretisch zum Einrühren von Außenphase in die Öltröpfchen

kommen kann und damit zu einer Abnahme der KCl-Menge in der Außenphase, ohne dass Diffusion eine Rolle spielt. Aufgrund des Phasenverhältnisses wäre bei stattfindender Diffusion eine Abnahme auf 50 % zu erwarten gewesen, es konnte aber nur eine Verringerung um ca. 12 % gemessen werden. Dies kann einerseits an einem Verlust an innerer Wasserphase durch Koaleszenz während der Lagerung und andererseits an schon während der Herstellung stattfindender Diffusion liegen. Entscheidend ist aber, dass die Abnahme deutlich größer als 4 % ausfiel. Bei einer Verdünnung von 1 zu 20 vor der Messung ist maximal eine Abnahme um 4 % durch Koaleszenz der inneren Wassertröpfchen mit der äußeren Grenzfläche zu erklären. Somit konnte für dieses System eindeutig gezeigt werden, dass KCl durch die polymerhaltige Ölphase diffundieren kann und so zu einem Angleichen der Konzentration in beiden Phasen in nur drei Tagen führt.

Es ist also davon auszugehen, dass auch hydrophile Wirkstoffe, die in die  $W_1$ -Phase einer multiplen Emulsion eingearbeitet werden, während der Lagerung nicht dort verbleiben, sondern sich gleichmäßig in beiden wässrigen Phasen in nur wenigen Tagen verteilen werden. Um das Ziel einer Retardierung erreichen zu können, muss sich möglichst viel Wirkstoff in der  $W_1$ -Phase befinden. Das Verhältnis von innerer Wasserphase zu äußerer Wasserphase sollte also möglichst groß sein.

Die bei den Stabilitätsuntersuchungen vorgestellte Methode zur Bestimmung des Phasenverhältnisses ist also nicht nur für die Beurteilung der Stabilität einer multiplen Emulsion entscheidend, sondern liefert zusätzlich Aufschluss darüber, wie viel Wirkstoff maximal verkapselt werden kann bzw. wie viel Wirkstoff über die Lagerung hinweg verkapselt vorliegt.

#### **4.2.2 Freisetzungsuntersuchungen**

In diesem Kapitel soll gezeigt werden, inwieweit sich die Freisetzung eines Wirkstoffs durch die Verwendung einer multiplen Emulsion als Arzneistoffträger beeinflussen lässt. Es wurde versucht, einen hydrophilen Arzneistoff durch Einarbeitung in eine W/O/W-Emulsion retardiert freizusetzen. Bei der Auswahl eines geeigneten Modellarzneistoffs wurden sowohl physikalische Eigenschaften

des Wirkstoffs als auch therapeutische Aspekte in Betracht gezogen. Als Arzneistoff wurde Ambroxol HCl ausgewählt, da es sich bei diesem um einen relativ polaren Wirkstoff handelt. Ein Verbleib in der  $W_1$ -Phase mit nur langsamer Freisetzung durch die Ölphase erscheint daher möglich. Ambroxol ist als Retardhartkapsel im Handel, in dieser Form aber für Kinder unter 12 Jahren nicht zugelassen. Für Kinder bieten sich aufgrund der leichteren Einnahme flüssige Arzneiformen an. Mit einer multiplen Emulsion könnte eine Retardierung bei flüssiger Form erreicht werden.

Wie bereits dargestellt, ist der Anteil an verkapseltem Wirkstoff maximal so groß wie der Anteil des Wassers, das sich in der  $W_1$ -Phase befindet, sofern der Wirkstoff durch die Ölphase diffundieren kann und es somit während der Lagerung zu einem Konzentrationsausgleich in den Wasserphasen kommt. Nur der verkapselte Anteil des Wirkstoffs kann durch die Arzneiform retardiert freigesetzt werden. Es wurde demnach eine multiple Emulsion mit einem möglichst großen Verhältnis von  $W_1$ - zu  $W_2$ -Phase hergestellt. Die Primäremulsion bestand zu 67 % aus innerer Wasserphase und die multiple Emulsion zu 60 % aus dieser Primäremulsion. Daraus resultiert folgendes Phasenverhältnis:  $W_1/O/W_2$ : 40/20/40.

Da ein Ausgleich der Ambroxolkonzentration über beide wässrige Phasen während der Lagerung nicht zu verhindern ist, wurde Ambroxol HCl schon bei der Herstellung in gleicher Konzentration zur  $W_1$ - und  $W_2$ -Phase gegeben. Der Vorteil dieser Vorgehensweise liegt einerseits darin, dass der osmotische Druck in beiden wässrigen Phasen gleich ist, und andererseits, dass auf diese Weise die Bedingung für die Bestimmung des tatsächlichen Phasenverhältnisses gegeben ist, da es sich bei Ambroxol HCl um eine leitfähige Substanz handelt. Die Konzentration des Ambroxol HCl betrug 1,25 % bezogen auf die wässrige Phase und damit 1,0 % bezogen auf die multiple Emulsion. Die Herstellung erfolgte mit dem Unguator<sup>®</sup> 2000, wie in Abschnitt 3.2.2.2 beschrieben. Die genaue Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 3 aufgeführt.



Tabelle 3 Zusammensetzung der Ambroxol HCl-haltigen Primär- und multiplen Emulsion und einer zu Vergleichszwecken hergestellten O/W-Emulsion mit gleichen Phasenanteilen (% m/m).

Formulierung	W <sub>1</sub> -Phase	Ölphase	W <sub>2</sub> -Phase
wo_A1	67 % W-Phase	33 % Ölphase	
	2,5 % MHPC	6 % EC	
	1,25 % Ambroxol HCl	92 % Octyldodecanol	
	96,25 % dest. Wasser		
wow_A1	40 % W-Phase	20 % Ölphase	40 % W-Phase
	2,5 % MHPC	6 % EC	2,5 % MHPC
	1,25 % Ambroxol HCl	92 % Octyldodecanol	1,25 % Ambroxol HCl
	96,25 % dest. Wasser		96,25 % dest. Wasser
ow_A1		20 % Ölphase	80 % W-Phase
		6 % EC	2,5 % MHPC
		92 % Octyldodecanol	1,25 % Ambroxol HCl
			96,25 % dest. Wasser

Diese multiple Emulsion unterscheidet sich demnach von der in Abschnitt 4.1.2 untersuchten Emulsion wow\_RG9 nur im Austausch von KCl gegen Ambroxol HCl. Die Stabilitätsuntersuchungen ergaben daher auch sehr ähnliche Ergebnisse. Die Öltropfen in der multiplen Emulsion koaleszierten während der Lagerung, und der Innenphasenanteil lag nach der Herstellung etwas unter dem durch die Rezeptur vorgegebenen Wert und blieb dann relativ konstant. Einen deutlichen Unterschied zu KCl-haltigen Emulsionen zeigte die Bestimmung der Größenverteilung der Wassertröpfchen in der Primäremulsion.

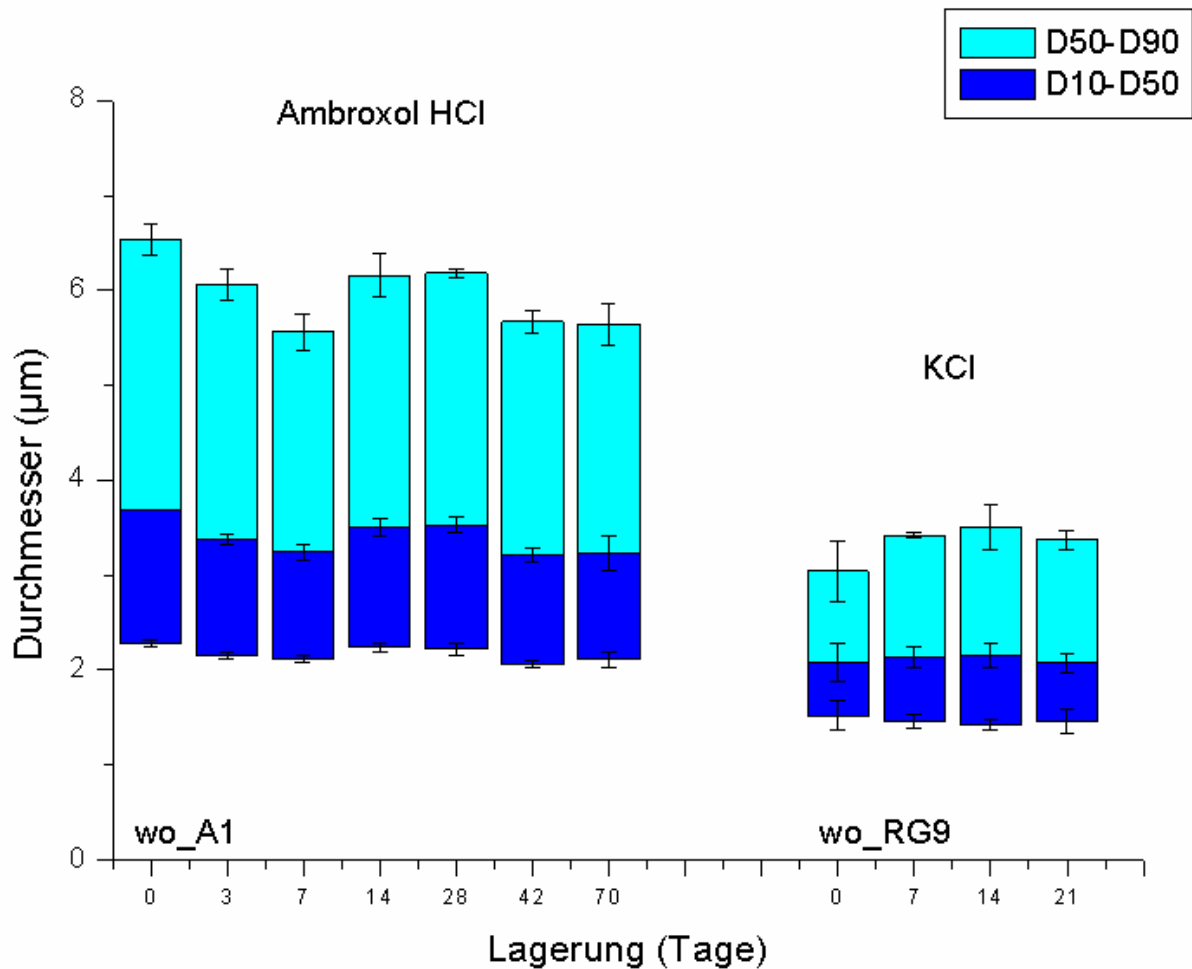


Abb. 4.18: Vergleich der Teilchengrößenverteilung der Wassertröpfchen in den W/O-Primäremulsionen mit Ambroxol HCl oder KCl in den W-Phase. Angegeben ist die Anzahlverteilung, die mit dem mikroskopischen Verfahren gemessen wurde. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 2 und 3 wiedergegeben.

In Abbildung 4.18 ist zu sehen, dass die Wassertröpfchen größer sind als bei der Verwendung von KCl. 80 % der Tropfen haben einen Durchmesser zwischen 2 und 7 µm. Entscheidend ist aber, dass sich in diesem Fall keine Koaleszenz der Wassertröpfchen zeigte. Ambroxol hat amphiphile Eigenschaften, kann sich daher in der Grenzfläche anreichern und könnte so die Stabilität der Emulsion erhöhen.

Die in Tabelle 4 dargestellten Ergebnisse der Grenzflächenspannungsuntersuchungen (siehe Abschnitt 3.2.6) zeigen jedoch, dass die Zugabe sowohl von KCl als auch von Ambroxol HCl kaum einen Einfluss auf die Höhe der Grenzflächenspannung hat. Die Ölphase mit 6 % Ethylcellulose konnte nicht vermessen werden, da der Ring während der Messung nicht in der Grenzfläche

verblieb. Es ist aber davon auszugehen, dass sich an der Abstufung der unterschiedlichen Wasserphasen zueinander nichts ändern würde.

Die erhöhte Stabilität der Ambroxol-haltigen Emulsionen ist demnach eher auf ein unterschiedlich stark ausgeprägtes Ausfallen der Ethylcellulose an der Phasengrenze zurückzuführen. Die Tatsache, dass Ethylcellulose an der Phasengrenze ausfällt, stellt einen wichtigen Aspekt der Stabilisierung dieser Systeme dar. Das wurde bereits von Melzer (2000) gezeigt.

Tabelle 4 Grenzflächenspannungen zwischen unterschiedlich zusammengesetzten Phasen in mN/m.

	Eutanol®	Eutanol® + 2 % EC
Wasser	26,13±0,10	7,55±0,02
Wasser + 2,5 % MHPC		8,09±0,11
Wasser + 2,5 % MHPC + 0,6 % KCl		7,90±0,05
Wasser + 2,5 % MHPC + 1,25 % Ambroxol HCl		7,79±0,03

Für die Freisetzungsuntersuchungen wurden die multiplen Emulsionen einen Tag nach der Herstellung verwendet.

In der Literatur werden für Freisetzungsuntersuchungen aus multiplen Emulsionen im Wesentlichen zwei Methoden erwähnt:

- Freisetzung aus einem Dialyseschlauch mit anschließender UV- oder HPLC-Detektion
- Direkte Freisetzung in elektrolytarmem Wasser mit konduktometrischer Detektion

Eine genaue Beschreibung, wie diese Methoden an das zu untersuchende System angepasst wurden, findet sich in Abschnitt 3.2.9.

Aufgrund der Möglichkeit, bei physiologischen pH-Werten messen zu können, wurde zunächst die Methode mit Einsatz einer Dialysemembran und anschließender HPLC-Bestimmung verwendet. Abbildung 4.19 zeigt die Ergebnisse aus der Freisetzungsuntersuchung bei pH 1,0. Untersucht wurden die zuvor

beschriebenen W/O/W-Emulsionen mit Ambroxol HCl in der  $W_1$ - und der  $W_2$ -Phase. Zu Vergleichszwecken wurde außerdem eine O/W-Emulsion, deren ölige und wässrige Phase dieselbe Zusammensetzung wie die Phasen der multiplen Emulsion haben und die auch die gleiche Gesamtmenge an ölgiger und wässriger Phase hat, sowie die zur Herstellung der multiplen Emulsion verwendete Primäremulsion untersucht.

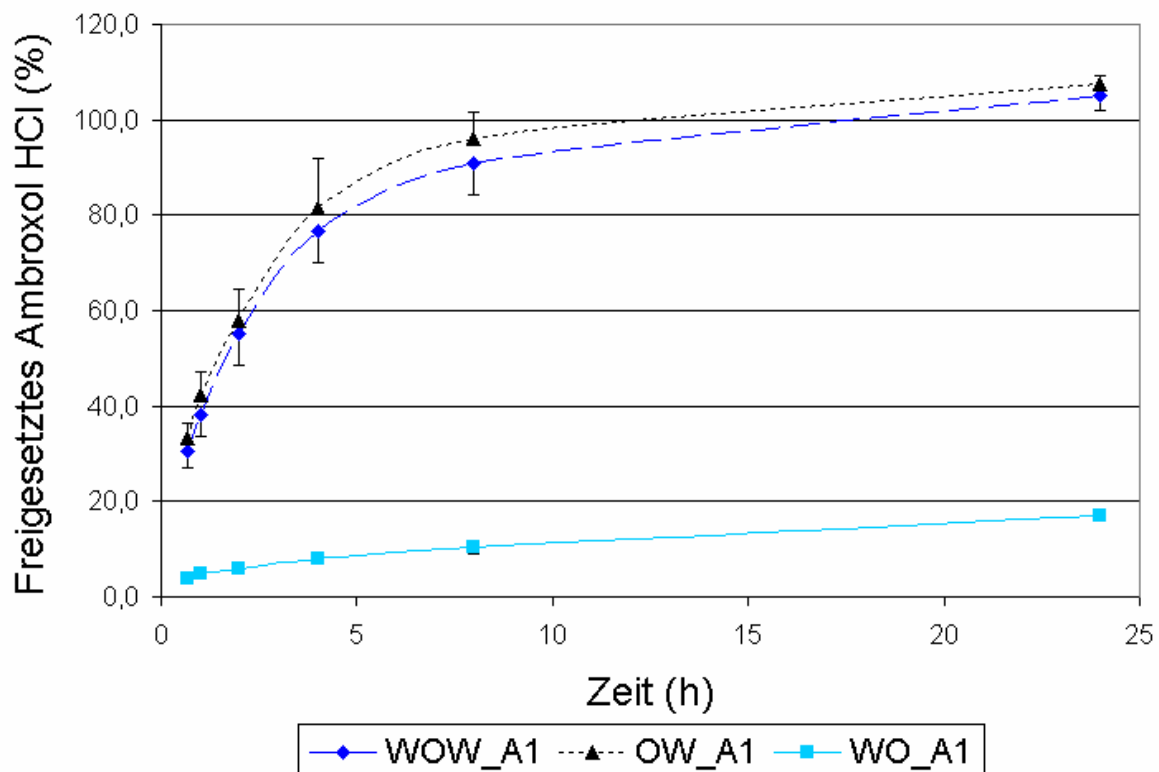


Abb. 4.19: Freisetzung mit Dialyse und HPLC-Bestimmung von Ambroxol HCl aus unterschiedlichen Formulierungen bei pH 1. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Die multiple Emulsion zeigt eine deutlich retardierte Freisetzung des Ambroxol HCl. Nach 30 min sind ca. 30 % freigesetzt und nach 5 h ca. 80 %. Dass der Wert der Freisetzung nach 24 h über 100 % liegt, ist auf die unvermeidliche Verdunstung des Freisetzungsmediums bei 37 °C zurückzuführen. Die O/W-Emulsion, die das gesamte Ambroxol HCl in der äußeren Wasserphase enthält, unterscheidet sich davon im Freisetzungsverhalten nicht signifikant. Die Primäremulsion hingegen setzt den Arzneistoff deutlich langsamer frei. Nach 24 h wurden weniger als 20 % des Ambroxol HCl freigesetzt.

In Abbildung 4.20 sind die Ergebnisse aus der Freisetzung in Phosphatpuffer bei pH 6,8 dargestellt. Es ergibt sich die gleiche Reihung der Formulierungen wie bei pH 1,0. Die W/O/W-Emulsion und die O/W-Emulsion setzen den Wirkstoff nahezu gleich schnell frei. Die Primäremulsion setzt den Wirkstoff deutlich langsamer frei. Bei allen drei Formulierungen verlangsamt sich allerdings die Ambroxol-Freisetzung bei pH 6,8 stark. In diesem Milieu ist auch bei der W/O/W-Emulsion und der O/W-Emulsion die Freisetzung nach 24 h noch nicht komplett abgeschlossen. Erreicht wird ein Wert zwischen 50 und 60 %.

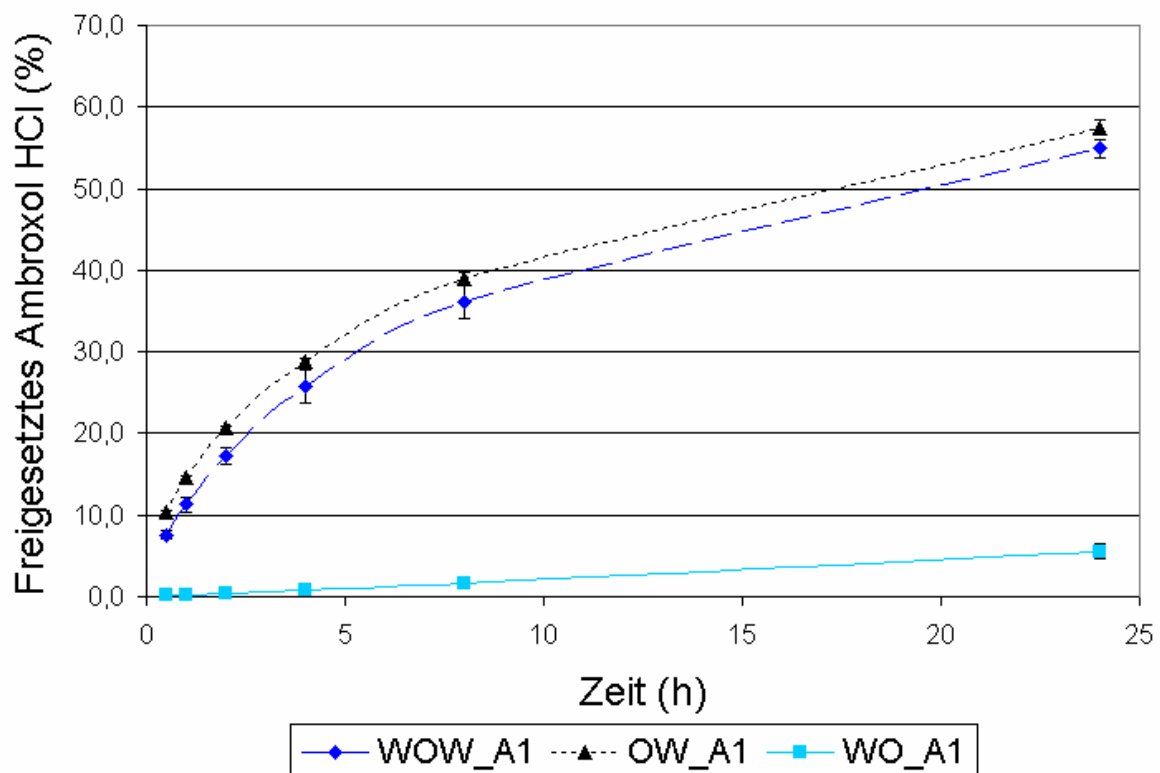


Abb. 4.20: Freisetzung mit Dialyse und HPLC-Bestimmung von Ambroxol HCl aus unterschiedlichen Formulierungen bei pH 6,8. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Aus diesen beiden Versuchen lassen sich drei wichtige Fragestellungen ableiten:

1. Warum ist die Freisetzung aus der O/W-Emulsion fast genauso stark retardiert wie die aus der W/O/W-Emulsion?
2. Warum setzen die Formulierungen den Wirkstoff bei pH 6,8 deutlich langsamer frei als bei pH 1,0?
3. Warum ist die Freisetzung aus der W/O-Primäremulsion so extrem langsam?

**Zu 1.:** Eigentlich wäre zu erwarten, dass die W/O/W-Emulsion 50 % und die O/W-Emulsion 100 % des Wirkstoffs direkt am Anfang der Freisetzungsuntersuchung freisetzt, entsprechend dem Anteil des Wassers in der äußeren Phase und damit entsprechend dem Anteil des Ambroxol HCl in der äußeren Phase. Dies ist offensichtlich nicht der Fall. Als Ursache hierfür kommt die Verwendung des Dialyseschlauchs zur Separierung der Emulsion vom Freigabemedium in Betracht.

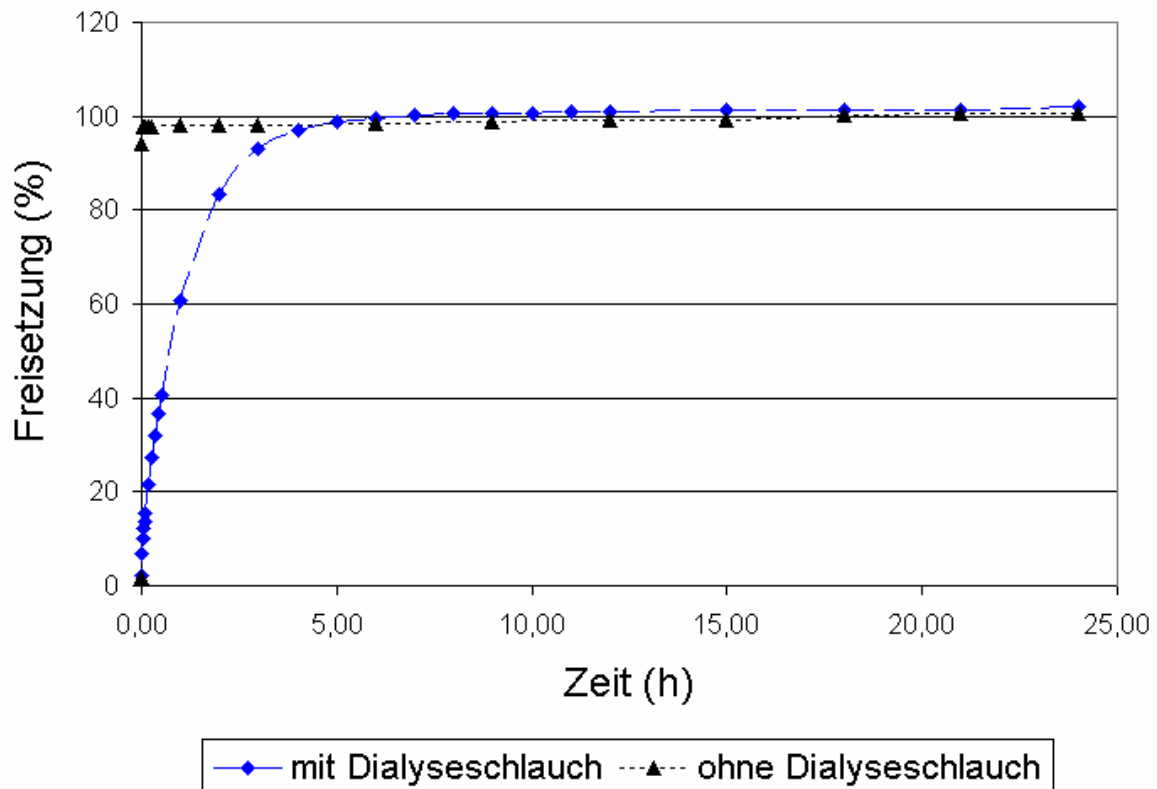


Abb. 4.21: Freisetzung von Ambroxol HCl aus der W-Phase mit und ohne Dialyseschlauch mit konduktometrischer Detektion. Die Zusammensetzung der W-Phase ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Abbildung 4.21 zeigt die Freisetzung aus der Ambroxol HCl-haltigen W-Phase mit und ohne Dialyseschlauch. Für diesen Versuch wurde die konduktometrische Methode eingesetzt. Die retardierende Wirkung des Dialyseschlauchs ist deutlich zu erkennen. Die verzögerte Freisetzung zu Beginn der Messungen ist demnach auf den Einfluss des Dialyseschlauchs zurückzuführen. Ob dieser auch die Ursache für die ähnliche Freisetzung aus der W/O/W-Emulsion und der O/W-Emulsion ist, wurde ebenfalls mit Hilfe der konduktometrischen Methode untersucht.

In Abbildung 4.22 ist die Freisetzung aus der W/O/W-Emulsion, der O/W-Emulsion und der W-Phase in destilliertem Wasser mit konduktometrischer Detektion bei direkter Zugabe ohne Dialyse dargestellt. Aus der W/O/W-Emulsion werden sofort über 50 % des Ambroxol HCl freigesetzt. Dies entspricht ungefähr dem Anteil des Wassers in der  $W_2$ -Phase. Der Rest des Ambroxol HCl wird verzögert, aber deutlich schneller als bei Verwendung eines Dialyseschlauchs freigesetzt. Die O/W-Emulsion und die W-Phase zeigen keine retardierte Freisetzung, sondern eine sofortige 100 %ige Freigabe des Wirkstoffs in das Freisetzungsmedium.

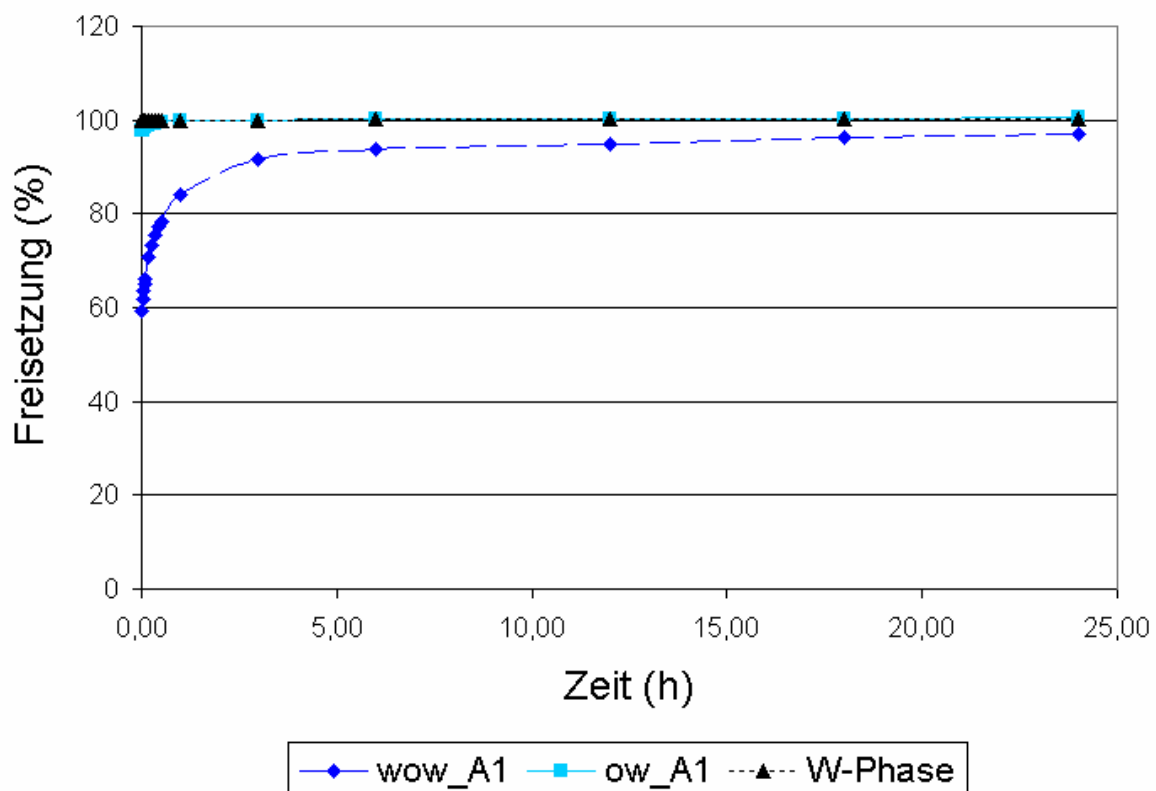


Abb. 4.22: Freisetzung ohne Dialyse von Ambroxol HCl aus unterschiedlichen Formulierungen mit konduktometrischer Detektion. Die Zusammensetzung der Emulsionen und Phasen ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Die Retardierung bei pH 1,0 ist für die W/O/W-Emulsion und die O/W-Emulsion also nicht auf die Formulierung, sondern im Wesentlichen auf die Verwendung des Dialyseschlauches zurückzuführen.

**Zu 2.:** Bei Ambroxol HCl handelt es sich um eine schwache Säure, bei Ambroxol hingegen um eine schwache Base. Der  $pK_s$ -Wert von Ambroxol wurde potentiometrisch bei 7,01 detektiert (siehe Abschnitt 3.2.7). Dies bedeutet, dass bei

pH 1,0 fast das gesamte Ambroxol als Hydrochlorid vorliegt, während bei pH 6,8 38 % des Ambroxols unprotoniert und damit in lipophiler Form vorliegen. Man könnte daher schließen, dass das unprotonierte Ambroxol besser durch die Ölphase diffundieren kann und somit bei pH 6,8 schneller freigesetzt wird. Entscheidend ist aber die Auswirkung des pH-Wertes auf den Verteilungskoeffizienten. Dieser wurde zwischen der Ölphase und der mit dem jeweiligen Freisetzungsmedium gemischten W-Phase bestimmt (siehe Abschnitt 3.2.8).

Bei pH 1,0 ergab sich ein Verteilungskoeffizient von 0,04 und bei pH 6,8 von 20,8. Dies bedeutet, dass bei gleichen Volumina der beiden Phasen sich bei pH 1,0 20-mal mehr Ambroxol bzw. Ambroxol HCl in der W-Phase aufhält als in der Ölphase. Bei pH 6,8 ist das Verhältnis genau entgegengesetzt. Beim Einbringen der Formulierungen im Dialyseschlauch in das Freisetzungsmedium gleicht sich der pH-Wert der Emulsion im Inneren des Dialyseschlauchs sehr schnell an den des Freisetzungsmediums an. Im Falle des Phosphatpuffers bei pH 6,8 führt dies zu einer Umverteilung des Ambroxols aus den wässrigen Phasen in die Ölphase. Die beobachtete Retardierung aus der W/O/W-Emulsion und der O/W-Emulsion beruht also auf der Freisetzung der Ambroxolbase aus der in beiden Fällen gleich großen Ölphase. Beide Formulierungen zeigen bei pH 6,8 eine annähernd deckungsgleiche Freisetzung. Die Konzentration des Ambroxols in der  $W_2$ -Phase ist durch die Umverteilung in die Ölphase bei pH 6,8 deutlich kleiner als bei pH 1,0. Daher ist der Konzentrationsunterschied von der  $W_2$ -Phase zum Freisetzungsmedium geringer als bei pH 1,0. Dies verlangsamt die Diffusion durch den Dialyseschlauch, so dass dieser Schritt auch hier geschwindigkeitsbestimmend wird. Dieser stark ausgeprägte Einfluss des Dialyseschlauches auf die Freisetzungsgeschwindigkeit eines Wirkstoffs bei Umverteilungsvorgängen im Dialyseschlauch deckt sich mit den Untersuchungen von Washington (1989) zu kolloidalen Wirkstoffträgern.

Diese Erklärung setzt voraus, dass sich der pH-Wert des Freisetzungsmediums deutlich schneller auf die äußere Phase der Formulierung über die Dialysemembran ausbreitet, als Ambroxol aus der äußeren Phase über die Dialysemembran in das Freisetzungsmedium diffundiert. Um die Dauer bis zum Angleichen des pH-Wertes abschätzen zu können, wurde eine neutrale Indikatorlösung in einem



Dialyseschlauch in eine Lösung von pH 2 gegeben und die Zeit bis zum Farbumschlag gemessen (siehe Abschnitt 3.2.10). Der vollständige Farbumschlag erfolgte nach 2 bis 3 Minuten. Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 4.21, dass die Freisetzung von Ambroxol aus einer wässrigen Phase durch einen Dialyseschlauch deutlich mehr Zeit in Anspruch nimmt. 80 % des Ambroxols sind erst nach ca. 2 Stunden freigesetzt.

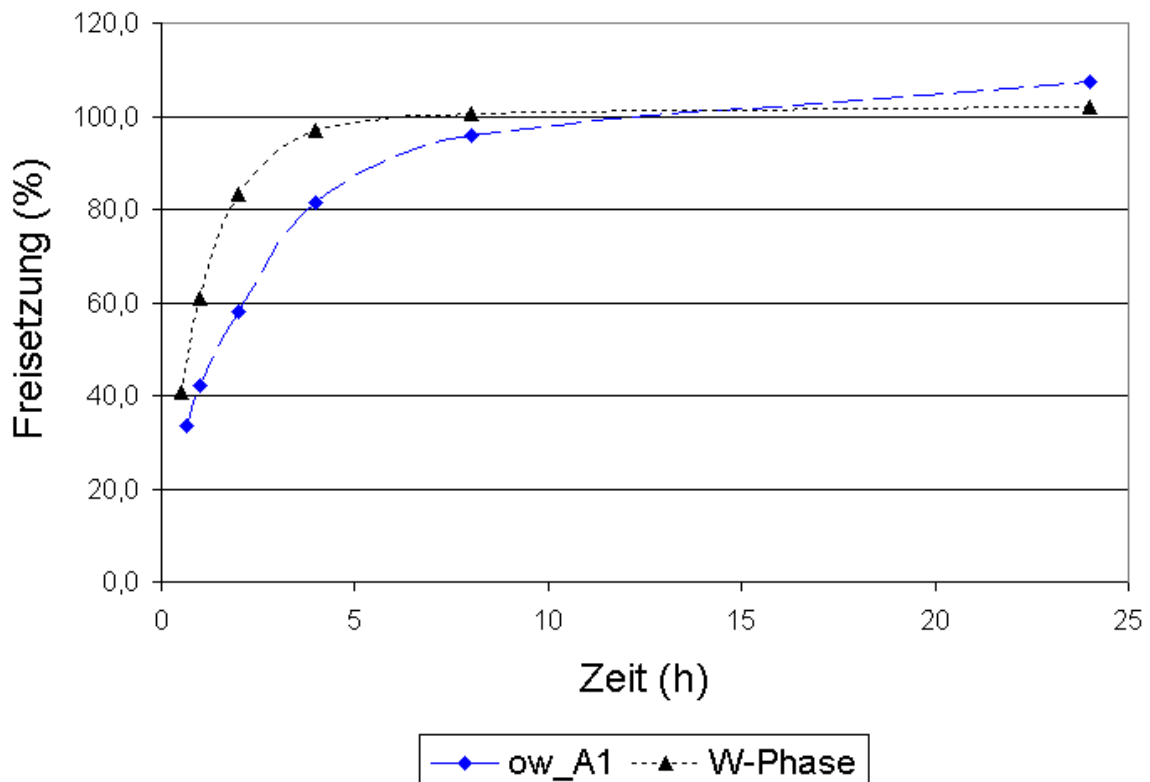


Abb. 4.23: Vergleich der Freisetzung aus der O/W-Emulsion und der W-Phase jeweils mit Dialyse und HPLC-Detektion von Ambroxol HCl bei pH 1,0. Die Zusammensetzung der Emulsionen und Phasen ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

**Zu 3.:** Der für die Freisetzung geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei pH 1,0 ist die Diffusion durch den Dialyseschlauch. Die im Vergleich dazu verlangsamte Freisetzung bei pH 6,8 kommt durch die Umverteilung des Ambroxols in die Ölphase und dadurch nochmals verlangsamte Diffusion durch den Dialyseschlauch zustande. Dies gilt aber nur für die Formulierungen mit wässriger Außenphase. Die W/O-Primäremulsion setzt in beiden Fällen den Wirkstoff deutlich langsamer frei. Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten wäre eine Hydrophobisierung des Dialyseschlauches durch die ölige Außenphase. Diese Vermutung wird gestützt

durch die Beobachtung, dass die Freisetzung aus der O/W-Emulsion bei pH 1,0 mit Dialysemembran langsamer ist als die Freisetzung aus der reinen W-Phase bei gleichen Bedingungen. Der Vergleich dieser beiden Messungen ist in Abbildung 4.23 dargestellt.

#### **4.2.2.1 Schlussfolgerungen für Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung aus multiplen Emulsionen**

Die Verwendung einer Methode, bei der die Emulsion in einem Dialyseschlauch in das Freisetzungsmedium gegeben wird, hat den Vorteil, dass sie bei physiologischen pH-Werten durchgeführt werden kann. Sie hat aber auch zwei entscheidende Nachteile:

1. Der Dialyseschlauch selbst kann die Freisetzung verlangsamen.
2. Im abgegrenzten Raum des Schlauches können sich pH-Wertänderungen durch das Freisetzungsmedium sehr schnell auf die Formulierung übertragen und dort zu Umverteilungsprozessen des Wirkstoffes führen.

Aus diesen Überlegungen lassen sich zwei allgemeine Forderungen an Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung aus multiplen Emulsionen ableiten, wenn diese für das Verhalten der Arzneiform nach Applikation am Menschen relevante Ergebnisse liefern sollen:

Bei Experimenten, die einen Dialyseschlauch verwenden, muss zwingend belegt werden, dass nicht der Dialyseschlauch maßgeblich für die Retardierung ist. Außerdem sollte stets der Beweis erbracht werden, dass die W/O/W-Emulsion tatsächlich einen Vorteil gegenüber einer einfachen O/W-Emulsion bietet.

Für das vorgestellte Beispiel einer W/O/W-Emulsion bedeutet das, dass die Methode mit Dialysemembran keine auf die Eigenschaften der multiplen Formulierung zurückzuführenden Ergebnisse liefert. Die in Abbildung 4.22 dargestellte konduktometrische Messung zeigt hingegen den tatsächlichen Einfluss der Formulierung auf die Freisetzung. Eine hierauf aufbauende Optimierungsstrategie sollte zum Ziel haben, das Verhältnis der  $W_1$ - zur  $W_2$ -Phase zu vergrößern. Außerdem könnte in der Variation der Ölphase eine Möglichkeit liegen, die Freisetzung aus der  $W_1$ -Phase weiter zu verlangsamen.

## 5 Abschlussdiskussion

Zwei Ergebnisse dieser Arbeit haben nicht nur auf die Entwicklungsstrategie des untersuchten multiplen Systems einen Einfluss, sondern lassen sich im Prinzip für alle Arbeiten an W/O/W-Emulsionen verallgemeinern, die zum Ziel haben, einen niedermolekularen Wirkstoff aus der inneren Wasserphase retardiert freizusetzen:

Erstens wurde gezeigt, dass die Diffusion von niedermolekularen Wirkstoffen durch die Ölphase nicht zu verhindern ist. Dies bedeutet, dass sich im Laufe der Lagerung ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen den beiden wässrigen Phasen einstellen wird. Mit einer Retardierung ist aber nur für den in der  $W_1$ -Phase verkapselt vorliegenden Wirkstoff zu rechnen. Daher sollte das Verhältnis von  $W_1$ - zu  $W_2$ -Phase möglichst groß gewählt werden und auch nach der Herstellung und während der Lagerung überprüft werden.

Zweitens konnte dargestellt werden, dass die Verwendung eines Dialyseschlauches bei In-vitro-Freisetzungsuntersuchungen die gemessene Freisetzungsgeschwindigkeit maßgeblich beeinflussen kann. Außerdem kann es während der Freisetzung in physiologischen Medien zu Umverteilungen des Wirkstoffes in die Ölphase kommen. Diese kann dazu führen, dass die eigentliche Freisetzung nicht aus der  $W_1$ -Phase stattfindet, sondern aus der Ölphase. Um zu zeigen, dass die Retardierung tatsächlich durch die Verkapselung des Wirkstoffes in der  $W_1$ -Phase verursacht wird, sollte daher immer das Ergebnis der W/O/W-Emulsion mit der einer O/W-Emulsion, deren Wasserphase sich aus der Summe der  $W_1$ - und der  $W_2$ -Phase bildet, verglichen werden.

Diese Erkenntnisse zwingen dazu, die im Abschnitt 2.2 unter Punkt d) beschriebenen Erfolge noch einmal kritisch zu beurteilen:

Mishra und Pandit (1990) konnten eine Retardierung von Pentazocin, das in die  $W_1$ -Phase einer W/O/W-Emulsion eingearbeitet war, in vivo zeigen, wenn der  $W_2$ -Phase 1 % Natriumchlorid zugesetzt wurde. Zunächst sollte erwähnt werden, dass sämtliche Versuche jeweils am Tag der Herstellung stattfanden. Es ist zu vermuten, dass ansonsten möglicherweise ganz andere Ergebnisse gefunden worden wären, da in der Rezeptur ein Phasenverhältnis von  $W_1$ - zu  $W_2$ -Phase von 21 zu 79

gewählt wurde. Ein Verbleib von Pentazocin in der  $W_1$ -Phase während der Lagerung ist sehr unwahrscheinlich, da Pentazocin von den Autoren in einem Teil der Rezepturen auch in der Ölphase zugegeben wurde, was darauf schließen lässt, dass sich Pentazocin in der verwendeten Ölphase löst. Dafür spricht auch der Verteilungskoeffizient von Pentazocin, der bei einem pH-Wert von 7,4 bei 2 liegt. Die In-vitro-Untersuchungen fanden in einer Diffusionszelle statt, in der die Emulsion vom Akzeptormedium durch eine Membran getrennt wurde. Gezeigt wurde der Einfluss von osmotisch aktiven Substanzen auf die Freisetzungsgeschwindigkeit. Die Autoren gingen aber nicht darauf ein, warum die multiple Emulsion, die den Wirkstoff ausschließlich in der Innenphase enthielt, bei einem Zusatz von 1,5 % Natriumchlorid zur Innenphase nahezu die gleiche Freisetzung zeigte wie die Emulsion, der der Arzneistoff zu gleichen Teilen zur inneren und äußeren Wasserphase zugesetzt wurde. Daraus ließe sich eigentlich schließen, dass nicht die Verkapselung des Wirkstoffes in der  $W_1$ -Phase für die retardierte Freisetzung maßgeblich ist.

Das Ergebnis von Nakhare und Vyas (1995), dass die Freisetzung von Rifampicin bei Verwendung einer Ölphase, mit der sich für Rifampicin ein höherer Verteilungskoeffizient zur wässrigen Phase einstellt, schneller stattfindet, steht im Gegensatz zu den Erkenntnissen dieser Arbeit. Auch Nakhare und Vyas verwendeten für die Freisetzungsuntersuchungen einen Dialyseschlauch. Ein zu beachtender Unterschied ist aber, dass von den Autoren zwar die Stabilität der Emulsion über vier Wochen untersucht worden ist, die Freisetzungsuntersuchungen fanden aber immer direkt nach der Herstellung statt, so dass vorstellbar ist, dass sich noch kein Konzentrationsgleichgewicht über beide wässrigen Phasen ausgebildet hatte und daher die Konzentration an Arzneistoff in der  $W_2$ -Phase tatsächlich bei der Formulierung mit dem höheren Verteilungskoeffizienten höher war. Eine Untersuchung der Freisetzung nach Lagerung wäre bei diesem System sehr wichtig, da bei einem Verteilungskoeffizienten zwischen 1 und 5 sicher von einem Angleichen der Konzentration in den wässrigen Phasen ausgegangen werden kann. Als Phasenverhältnis wurde von den Autoren 25/25/50 gewählt, so dass der verkapselte Anteil des Wirkstoffs nach Lagerung nur noch eine geringe Rolle spielen sollte.

Roy und Gupta (1993) konnten zwar eindeutig einen Zusammenhang zwischen der Freisetzungsgeschwindigkeit von Indometacin aus einer W/O/W-Emulsion und der Menge an gelöster Hypromellose in der W<sub>2</sub>-Phase zeigen, diese Messungen fanden allerdings auch direkt nach der Herstellung statt und angesichts eines Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten von Indometacin von 24 bei pH 7 (Roma et al., 2006) müsste dringend gezeigt werden, dass eine „einfache“ O/W-Emulsion nicht dasselbe Ergebnis liefern würde.

Auch der Versuch von Nakhare und Vyas, Diclofenac-Natrium aus W/O/W-Emulsionen retardiert freizusetzen (Nakhare u. Vyas, 1994 und 1996), ist in gleicher Hinsicht kritisch zu bewerten. In ihrer ersten Arbeit untersuchten die Autoren selbst den sich einstellenden Verteilungskoeffizienten zwischen den von ihnen verwendeten Phasen. Je nach Phasen und gewählten pH-Werten lag dieser zwischen 5,7 und 999. Daher ist auch hier davon auszugehen, dass eine O/W-Emulsion die gleiche Retardierung zeigen würde, da sich der größte Teil des Arzneistoffs in der Ölphase befindet. Aus derselben Überlegung heraus kommen auch Lindenstruth und Müller (2004) in der Schlussfolgerung ihrer Arbeit zu dem Ergebnis, dass Diclofenac-Natrium kein geeigneter Beispielarzneistoff ist, um eine Retardierung durch W/O/W-Emulsionen zu zeigen.

Diese Bewertung der bisherigen Arbeiten, die zum Ziel hatten, einen niedermolekularen Arzneistoff durch das Verkapseln in einer multiplen Emulsion retardiert freizusetzen, ist ernüchternd. Sie wird aber von den Arbeiten gestützt, die die Möglichkeit einer alternativen Verwendung von O/W-Emulsionen in Betracht zogen. Zum einen ist an dieser Stelle die schon zuvor erwähnte Arbeit von Lindenstruth und Müller (2004) zu nennen, zum anderen ergab auch die Untersuchung von Ferreira et al. (1994) zum Vergleich von O/W- mit W/O/W-Emulsionen zur retardierten Freisetzung von Metronidazol, dass bei der dermalen Anwendung kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Formulierungen gefunden werden konnte.

Diese Betrachtung führt zu der Schlussfolgerung, dass in Zukunft die Wahl des Arzneistoffs kritischer erfolgen sollte. Ein Arzneistoff ist dann geeignet, wenn er in einem breiten pH-Bereich gut wasserlöslich ist und damit einen niedrigen

Verteilungskoeffizienten hat. Außerdem sollte er eine schnelle Resorption zeigen und eine niedrige Halbwertszeit besitzen, damit nicht diese Faktoren schon für eine Retardierung sorgen. Für Ambroxol HCl gelten diese Bedingungen zumindest im unteren pH-Bereich, weshalb in Abschnitt 4.2.2 bei der konduktometrischen Freisetzungsmessung ein Vorteil der W/O/W- gegenüber der O/W-Formulierung gezeigt werden konnte. Die Rezeptur müsste aber noch dahingehend verbessert werden, dass das Verhältnis von  $W_1$ - zu  $W_2$ -Phase vergrößert wird. Außerdem müsste noch gezeigt werden, dass es auch in vivo zu einer Retardierung durch die W/O/W-Emulsion kommt, die der einer O/W-Emulsion überlegen ist.

## 6 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, stabile tensidfreie multiple Emulsionen herzustellen und den Einfluss der Formulierung auf die Freisetzung eines in die innere Wasserphase eingearbeiteten hydrophilen Wirkstoffs zu untersuchen.

Für die Beurteilung der Stabilität der hergestellten Emulsionen konnten zwei neue Methoden entwickelt werden. Mit dem in dieser Arbeit entwickelten Bildanalyseverfahren konnte die Tropfengrößenverteilung von W/O-Primäremulsionen bestimmt werden, die aufgrund mangelnder Stabilität nach starker Verdünnung mit den gängigen Standardmethoden nicht zugänglich war. Des Weiteren wurde ein Verfahren entwickelt, das die Bestimmung des tatsächlichen Phasenverhältnisses einer multiplen W/O/W-Emulsion ermöglicht. Voraussetzung für dieses Verfahren ist die Zugabe einer leitfähigen Substanz zu beiden wässrigen Phasen in gleicher Konzentration.

Mit diesen und weiteren Untersuchungsmethoden konnte gezeigt werden, dass sich mit den pharmazeutisch akzeptierten Polymeren Ethylcellulose und Methylhydroxypropylcellulose stabile, wirkstoffhaltige W/O-Primäremulsionen herstellen lassen. Bisher ist es nicht gelungen, auch die Öltröpfchen der multiplen Emulsion durch diese Polymerkombination hinreichend vor Koaleszenz zu schützen. Trotz Koaleszenz der Öltröpfchen bleibt jedoch die eingeschlossene innere Wasserphase zumindest über sechs Wochen Lagerung erhalten; am multiplen Charakter ändert sich während dieser Zeit also nichts.

Das Verhältnis von  $W_1$ - zu  $W_2$ -Phase ist für die retardierte Freisetzung von Wirkstoffen der entscheidende Parameter. Für das untersuchte System konnte gezeigt werden, dass auch eine extrem polare Substanz wie KCl durch die polymerhaltige Ölphase diffundieren kann. Da die Diffusion von der Anwesenheit von Ethylcellulose in der Ölphase abhängig war, könnte vermutet werden, dass die Verwendung einer hydrophoberen Ölphase und anderer Emulgatoren eine Möglichkeit wäre, um die Diffusion und damit den Verlust verkapselten Wirkstoffs während der Lagerung zu verhindern. Für KCl ist dies auch durchaus vorstellbar (Garti u. Benichou, 2001b). Da es sich bei den meisten hydrophilen Arzneistoffen

aber entweder um die Salze schwacher Säuren oder schwacher Basen handelt, liegen diese Stoffe immer auch zu einem gewissen Teil ungeladen und damit lipophiler vor. Daher lässt sich auch bei anderen Systemen vermuten, dass es während der Lagerung zu einem Konzentrationsausgleich zwischen beiden wässrigen Phasen durch Diffusion kommen wird. Da nur der Wirkstoffanteil, der sich in der inneren Wasserphase befindet, durch die Formulierung retardiert wird, sollte das Verhältnis der inneren zur äußeren Wasserphase möglichst groß sein. In diesem Zusammenhang ist wichtig, dass eine Methode entwickelt wurde, mit der das tatsächliche Phasenverhältnis bestimmt werden kann.

In eigenen Versuchen konnte schließlich gezeigt werden, dass sich nicht unbedingt das durch die Rezeptur vorgegebene Phasenverhältnis auch einstellt. Der Versuch, durch Einarbeiten eines größeren Wasseranteils in die Primäremulsion oder durch mehr Primäremulsion in der multiplen Emulsion den Anteil an  $W_1$ -Phase über 45 % zu steigern, war bisher nicht erfolgreich. In beiden Fällen kam es während des zweiten Herstellungsschrittes zu einem Verlust an  $W_1$ -Phase.

Aus den Untersuchungen zur Freisetzung von Ambroxol HCl aus der multiplen Emulsion ergaben sich zwei grundlegende Forderungen für die Durchführung von Freisetzungsuntersuchungen aus multiplen W/O/W-Emulsionen. Bei der Aufstellung des Versuchsplans muss bei der Verwendung eines Dialyseschlauches beachtet werden, dass nicht dieser die Freisetzung maßgeblich beeinflusst. Außerdem ist ein Vergleich der W/O/W-Emulsion mit einer O/W-Emulsion hinsichtlich ihrer Retardierung sinnvoll. Dies ist notwendig, da es bei physiologischen pH-Werten dazu kommen kann, dass der Wirkstoff hauptsächlich in der Ölphase vorliegt und aus dieser freigesetzt wird. Die aufwändige Herstellung einer multiplen Emulsion hätte dann keinen Einfluss auf die Freisetzung des Wirkstoffes und eine „einfache“ O/W-Emulsion würde die gleichen Freisetzungseigenschaften zeigen.

Im Falle des untersuchten multiplen Systems konnte ein retardierender Einfluss auf die Freisetzung eindeutig dem multiplen Charakter zugeordnet werden, allerdings nur bei der konduktometrischen Freisetzungsmethode ohne Verwendung eines Dialyseschlauches. Da eine Freisetzung in physiologischen Medien mit konduktometrischer Detektion nicht möglich ist, würden sich für die untersuchten



Emulsionen In-vivo-Untersuchungen anbieten, um zu zeigen, dass die W/O/W-Emulsion auch unter physiologischen Bedingungen einer O/W-Formulierung hinsichtlich der Freisetzung überlegen ist.

## 7 Literaturverzeichnis

- (Boys, 1890) Boys, C.V.: In soap bubbles – their colours and the forces which mould them. Young Eds (1890).
- (Bunjes, 2007) Bunjes, H.: Multiple Emulsionen in der Pharmazie. In: Multiple Emulsionen – Herstellung und Eigenschaften, Hrsg. Muschiolik, G., Bunjes, H., Behr's Verlag (2007), 207-241.
- (Carlotti et al., 2004) Carlotti, M.E., Sapino, S., Morel, S., Gallarate, M.: W/O/W multiple emulsions with mandelic acid. Journal of Drug Delivery Science and Technology 14(5) (2004), 409-417.
- (Daniels u. Barta, 1991) Daniels, R., Barta, A.: Herstellung, Charakterisierung und Stabilitätsprüfung von O/W-Emulsionen mit Methylhydroxypropylcellulose als Emulgator. Pharmazeutische Zeitung Wiss. 4 (1991), 177-183.
- (Dhanorkar et al., 2001) Dhanorkar, V.T., Gogte, B.B., Dorle, A.K.: Formation and stability studies of multiple (W/O/W) emulsions prepared with newly synthesized rosin-based polymeric surfactants. Drug Development and Industrial Pharmacy 27(6) (2001), 591-598.
- (Dickinson, 1992) Dickinson, E.: An introduction to food colloids, Kap. Flocculation. Oxford: Oxford Science Publications (1992), 101-109.
- (Einstein, 1906) Einstein, A.: Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen. Annalen der Physik 19 (1906), 289-306.

- (Einstein, 1911) Einstein, A.: Berichtigung zu meiner Arbeit: Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen. *Annalen der Physik* 24 (1911), 591-592.
- (Engel et al., 1968) Engel R.H., Riggi, S.J., Fahrenbach, M.J.: Insulin: Intestinal absorption as water-in-oil-in-water emulsions. *Nature* 219 (1968), 856-857.
- (Ferreira et al., 1994) Ferreira, L.A.M., Seiller, M., Grossiord, J.L., Marty, J.P., Wepierre, J.: Vehicle influence on in vitro release of metronidazole: role of W/O/W multiple emulsion. *International Journal of Pharmaceutics* 109 (1994), 251-259.
- (Ficheux et al., 1998) Ficheux, M.F., Bonakdar, L., Leal-Calderon, F., Bibette, J.: Some stability criteria for double emulsions. *Langmuir* 14 (1998), 2702-2706.
- (Fiedler, 1981) Fiedler, H.P.: Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, Band 1. Aulendorf: Editio Cantor Verlag (1981).
- (Florence u. Whitehill, 1982) Florence, A.T., Whitehill, D.: The formulation and stability of multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics* 11 (1982), 277-308.
- (Friberg et al., 1990) Friberg, S. E., Goubran, R. F., Kayali, I. H.: Emulsion Stability. In: *Food Emulsions*. Hrsg.: Larsson, Friberg. New York: Marcel Dekker (1990).
- (Garti u. Benichou, 2001a) Garti, N., Benichou, A.: Double emulsions for controlled-release applications – progress and trends. In: Sjöblom, J., *Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology*. Marcel Dekker (2001a), 385-386.

- (Garti u. Benichou, 2001b) Garti, N., Benichou, A.: Double emulsions for controlled-release applications – progress and trends. In: Sjöblom, J., *Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology*. Marcel Dekker (2001a), 391-392.
- (Garti et al., 1994) Garti, N., Aserin, A., Cohen, Y.: Mechanistic considerations on the release of electrolytes from multiple emulsions stabilized by BSA and nonionic surfactants. *Journal of Controlled Release* 29 (1994), 41-51.
- (Ghosh et al., 1997) Ghosh, L.K., Ghosh, N.C., Thakur, R.S., Pal, M., Gupta, B.K.: Design and evaluation of controlled-release W/O/W multiple emulsion oral liquid delivery system of chlorpheniramine maleate. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 23(11) (1997), 1131-1134.
- (Grossiord u. Seiller, 2001) Grossiord, J.L., Seiller, M.: W/O/W multiple emulsions: a review of the release mechanisms by break-up of the oily membrane. *S.T.P. Pharma Sciences* 11(5) (2001), 331-339.
- (Herbert, 1965) Herbert, W.J.: Multiple emulsions – a new form of mineral-oil antigen adjuvant. *Lancet* 286 (7416) (1965), 751.
- (Jager-Lezer et al., 1997) Jager-Lezer, N., Terrisse, I., Bruneau, F., Tokgoz, S., Ferreira, L., Clausse, D., Seiller, M., Grossiord, J.L.: Influence of lipophilic surfactant on the release kinetics of water-soluble molecules entrapped in a W/O/W multiple emulsion. *Journal of Controlled Release* 45 (1997), 1-13.

- (Kita et al., 1977) Kita, Y., Matsumoto, S., Yonezawa, D.: Viscometric method for estimating the stability of W/O/W-type multiple-phase emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science* 62 (1977), 87-94.
- (Leadi Cole u. Whateley, 1997) Leadi Cole, M., Whateley, T.L.: Release rate profiles of theophylline and insulin from stable multiple W/O/W emulsions. *Journal of Controlled Release* 49 (1997), 51-58.
- (Lindenstruth u. Müller, 2004) Lindenstruth, K., Müller, B.W.: W/O/W multiple emulsions with diclofenac sodium. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 58 (2004), 621-627.
- (Melzer, 2000) Melzer, E.: Herstellung und physikochemische Charakterisierung von W/O-Emulsionen unter Verwendung von Ethylcellulose als nichtionischem Polymeremulgator. Dissertation, Braunschweig, (2000).
- (Melzer et al., 2003) Melzer, E., Kreuter, J., Daniels, R.: Ethylcellulose: A new type of emulsion stabilizer. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2003), 23-27.
- (Mishra u. Pandit, 1990) Mishra, B., Pandit, J.K.: Multiple water-oil-water emulsions as prolonged release formulations of pentazocine. *Journal of Controlled Release* 14 (1990), 53-60.
- (Morishita et al., 1998) Morishita, M., Matsuzawa, A., Takayama, K., Isowa, K., Nagai, T.: Improving insulin enteral absorption using water-in-oil-in-water emulsion. *International Journal of Pharmaceutics* 172 (1998), 189-198.

- (Muguet et al., 2001) Muguet, V., Seiller, M., Barratt, G., Ozer, O., Grossiord, J.L.: Formulation of shear rate sensitive multiple emulsions. *Journal of Controlled Release* 70 (2001), 37-49.
- (Müller u. Schuhmann, 1996) Müller, R.H., Schuhmann, R.: Teilchengrößennmessung in der Laborpraxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1996).
- (Nakhare u. Vyas, 1994) Nakhare, S., Vyas, S.P.: Prolonged release of diclofenac sodium from multiple W/O/W emulsion systems. *Pharmazie* 49 (1994), 842-845.
- (Nakhare u. Vyas, 1995) Nakhare, S., Vyas, S.P.: Prolonged release of rifampicin from internal phase of multiple W/O/W emulsion systems. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 57(2) (1995), 71-77.
- (Nakhare u. Vyas, 1996) Nakhare, S., Vyas, S.P.: Preparation and characterization of multiple emulsion based systems for controlled diclofenac sodium release. *Journal of Microencapsulation* 13(3) (1996), 281-292.
- (Olivieri et al., 2003) Olivieri, L., Seiller, M., Bromberg, L., Besnard, M., Duong, T.N.L., Grossiord, J.L.: Optimization of a thermally reversible W/O/W multiple emulsion for shear-induced drug release. *Journal of Controlled Release* 88 (2003), 401-412.
- (Özer et al., 2000) Özer, Ö., Baloglu, E., Ertan, G.: The effect of the type and the concentration of the lipophilic surfactant on the stability and release kinetics of the W/O/W multiple emulsions. *International Journal of Cosmetic Science* 22 (2000), 459-470.

- (Potokar u. Gloxhuber, 1982) Potokar, M., Gloxhuber, C.: Toxikologie der Fettalkohole und ihrer Derivate. In: Fettalkohole, Rohstoffe, Verfahren, Verwendung. Hrsg. Fa. Henkel KgaA (1982), 173-192.
- (Rama et al., 2006) Rama, A.C.R., Veiga, F., Figueiredo, I.V., Sousa, A., Caramona, M.: Inclusion compounds of indomethacin with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. Dissolution profile and partition coefficient evaluation. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 42(1) (2006), 59-68.
- (Rimpler, 1996) Rimpler, S.: Pharmazeutisch-technologische Charakterisierung von O/W-Emulsionen mit Methylhydroxypropylcellulose als Polymer-emulgator. Dissertation, Braunschweig, (1996).
- (Roy u. Gupta, 1993) Roy, S., Gupta, B.K.: In vitro – in vivo correlation of indomethacin release from prolonged release W/O/W multiple emulsion system. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 19(15) (1993), 1965-1980.
- (Sato u. Ruch, 1980) Sato, T., Ruch, R.: Steric stabilization. In: Stabilization of colloidal dispersions by polymer adsorption. New York, London: Marcel Dekker (1980), 65-118.
- (Schulz u. Daniels, 2000) Schulz, M., Daniels, R.: Hydroxypropyl-methylcellulose (HPMC) as emulsifier for submicron emulsions: influence of molecular weight and substitution type on the droplet size after homogenisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 49 (2000), 231-236.

- (Seifritz, 1925) Seifritz, W.J.: Studies in emulsions. *Journal of Phys. Chem.* 29 (1925), 738-749.
- (Sela et al., 1994) Sela, Y., Magdassi, S., Garti, N.: Newly designed polysiloxane-graft-poly (oxyethylene) copolymeric surfactants: preparation, surface activity and emulsification properties. *Colloid & Polymer Science* 272 (1994), 684-691.
- (Shichiri et al., 1976) Shichiri, M., Kawamori, R., Gorya, Y., Oji, N., Shigeta, Y., Abe, H.: A model for evaluation of the peroral insulin therapy: short-term treatment of alloxan diabetic rats with oral water-in-oil-in-water insulin emulsions. *Endocrinologica Japonica* 23 (1976), 493-498.
- (Shukuwa et al., 1997) Shukuwa, T., Kligman, A.M., Stoudemayer, T.J.: A new model of assessing the damaging effects of soaps and surfactants on human stratum corneum. *Acta Dermato-venereologica* 77 (1997), 29-34.
- (Silva Cunha et al., 1997a) Silva Cunha, A., Grossiord, J.L., Puisieux, F., Seiller, M.: Insulin in W/O/W multiple emulsions: preparation, characterization and determination of stability towards proteases in vitro. *Journal of Microencapsulation* 14(3) (1997), 311-319.
- (Silva Cunha et al., 1997b) Silva Cunha, A., Grossiord, J. L., Puisieux, F., Seiller, M.: Insulin in W/O/W multiple emulsions: biological activity after oral administration in normal and diabetic rats. *Journal of Microencapsulation* 14(3) (1997), 321-333.



- (Sonntag et al., 1979) Sonntag, H., Unterberger, B., Zimontkowski, S.: Experimentelle Untersuchungen der sterischen Stabilisierung von Emulsionen durch Polyvinylalkohol. *Colloid & Polymer Sciences* 257 (1979), 286-291.
- (Suzuki et al., 1998) Suzuki, A., Morishita, M., Kajita, M., Takayama, K., Isowa, K., Chiba, Y., Tokiwa, S., Nagai, T.: Enhanced colonic and rectal absorption of insulin using a multiple emulsion containing eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 87(10) (1998), 1196-1202.
- (Tedajo et al., 2001) Tedajo, G.M., Seiller, M., Prognon, P., Grossiord, J.L.: pH compartmented W/O/W multiple emulsion: a diffusion study. *Journal of Controlled Release* 75 (2001), 45-53.
- (Tomasi et al., 1997) Tomasi, M., Dertzbaugh, M.T., Hearn, T., Hunter, R.L., Elson, C.O.: Strong mucosal adjuvanticity of cholera toxin within lipid particles of a new multiple emulsion delivery system for oral immunization. *European Journal of Immunology* 27 (1997), 2720-2725.
- (Vaziri u. Warburton, 1994) Vaziri, A., Warburton, B.: Slow release of chloroquine phosphate from multiple taste-masked W/O/W multiple emulsions. *Journal of Microencapsulation* 11(6) (1994), 641-648.
- (Voigt, 2000) Voigt, R.: Pharmazeutische Technologie. Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 9. Auflage (2000), 201.

- (Washington, 1989) Washington, C.: Evaluation of non-sink dialysis methods for the measurement of drug release from colloids: effects of drug partition. International Journal of Pharmaceutics 56 (1989), 71-74.
- (Wengst u. Daniels, 2004) Wengst, J., Daniels, R.: Influence of a hydrophilic polymer on a polymer stabilized w/o emulsion. Proceedings International Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Nuremberg (2004), 619-620.